Vol. 13 1942

# ARQUIVOS

DO

# INSTITUTO BIOLOGICO

• Departamento da Defesa Sanitária da Agricultura •

SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

*Os Arquivos do Instituto Biologico aparecem sob a forma de artigos separados publicados à medida de sua apresentação, os quais anualmente são reunidos em um volume, que pode ser adquirido por permuta ou compra pelo preço marcado na capa.*

*Os artigos separados, impressos em numero limitado, são obtidos apenas por permuta.*

*Toda correspondencia referente aos Arquivos deve ser dirigida ao Superintendente do Instituto Biologico, (Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura) Caixa postal 119-A, São Paulo, Brasil.*

---

*Superintendente - Prof. Dr. H. da Rocha Lima.*

---

*The "Arquivos do Instituto Biologico" appear in the form of separate articles published as they are presented, and are annually united in one volume, which may be acquired by exchange or purchase at the price indicated on the cover.*

*The separate articles, a limited number of which is printed, may be obtained by exchange.*

*All correspondence referring to the "Arquivos" should be addressed to - Superintendente do Instituto Biologico, P. O. Box 119-A - São Paulo, Brazil.*

PREÇO DESTE NUMERO CR. $ 20,00

Vol. 13 1942

# ARQUIVOS

DO

# INSTITUTO BIOLOGICO

• Departamento da Defesa Sanitária da Agricultura •

SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
4 1943

# SUMARIO

Pags.

1. **Galvão, P. E. e J. Pereira Jr.** — ESTUDO DAS CONDIÇÕES PARA A COMPLETA DESTRUIÇÃO DE TODO O SISTEMA NERVOSO CENTRAL NOS MAMÍFEROS — Estampa 1.
*Studies on the conditions for the complete destruction of the entire central nervous system in mammals* . . . . . 1-8

2. **Galvão, P. E. e J. Pereira Jr.** — EVIDÊNCIAS DA DESTRUIÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL PELA TÉCNICA DE COMPRESSÃO COM SOLUÇÃO HIPERTÔNICA DE NaCl. I. INEXCITABILIDADE DOS CENTROS REFLEXOS.
*Evidences of the destruction of the central nervous system by the technique of compression with NaCl hypertonic solution. I. Inexcitability of the reflex centers* . . . . . 9-11

3. **Galvão, P. E. e J. Pereira Jr.** — EVIDÊNCIAS DA DESTRUIÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL PELA TÉCNICA DE COMPRESSÃO COM SOLUÇÃO HIPERTÔNICA DE NaCl. II. INEXCITABILIDADE DOS CENTROS NERVOSOS AO ESTIMULO DIRETO — Estampa 2.
*Evidences of the destruction of the central nervous system by the technique of compression with NaCl hypertonic solution. II. Inexcitability of the central nervous system by direct stimulation* 13-16

4. **Nóbrega, P. e R. C. Bueno** — SOBRE A PRESENÇA DA "SALMONELLA GALLINARUM" NOS OVOS DE GALINHAS PORTADORAS DE TIFO AVIÁRIO.
*On the presence of "Salmonella gallinarum" in fresh eggs of hens recognized as chronic carriers of fowl typhoid* . . . . . 17-20

5. **Nóbrega, P. e J. Reis** — IDENTIDADE DOS TOXOPLASMAS DE AVES E DE MAMÍFEROS — Com 1 figura no texto e estampas 3-6.
*Identity of avian and mammalian toxoplasma* . . . . . 21-28

6. **Sauer, H. F. G.** — "HORCIUS NOBILELLUS (BERG)" (HEM. MIR.) PRAGA DOS ALGODOAIS DO ESTADO DE S. PAULO — Com 9 figuras no texto e estampas 7-11.
*"Horcius nobilellus* (BERG)*" (Hem. Mir.) A pest of the cotton culture of the State of S. Paulo* . . . . . 29-66

7. **Autuori, M.** — CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA (ATTA SPP. - HYMENOPTERA-FORMICIDAE) II - O SAÚVEIRO INICIAL (ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908) — Com 1 figura no texto e estampas 12-22.
*Contribution to the knowledge of the "saúva" (Atta spp. — Hymenoptera-Formicidae) II - The incipient Saúva-nest. (Atta sexdens rubropilosa* FOREL, *1908)* . . . . . 67-86

(CONTINÚA)

Pags.

8. **Monte, Oscar** — DUAS NOVAS ESPÉCIES DE "DIORYMERELLUS" (COL. CURCULIONIDAE), PREJUDICIAIS ÀS ORQUIDEAS — Com 7 figuras no texto e estampa 23.
*Two new species of "Diorymerellus" (Col. Curculionidae), serious pest of orchids* . . . . . 87-90

9. **Monte, Oscar** — APONTAMENTOS SÔBRE TINGITIDEOS (HEMIPTERA) AMERICANOS, ESPECIALMENTE DO BRASIL — Com 2 figuras no texto.
*Notes on american tingitidae (Hemiptera) chiefly from Brazil* . 91-98

10. **Rocha e Silva, M.** — PREPARAÇÃO E PROPRIEDADES FARMACOLOGICAS DE COMPOSTOS SIMPLES DE HISTAMINA COM AMINO ACIDOS — Com 6 figuras no texto.
*Preparation and pharmacological properties of simple compounds of histamine with amino acids* . . . . . 99-113

11. **Reis, J.** — ARTRITE EM GALINHA PRODUZIDA POR "SALMONELLA PULLORUM" — Estampas 24-25.
*Arthritis in a fowl due to "S. pullorum"* . . . . . 115-118

12. **Franco do Amaral, J.** — ESTUDO DO ORGANISMO CAUSADOR DA BACTERIOSE DA MANDIOCA — Estampas 26-27.
*A study of the organism responsable for the bacteriose of the cassava* . . . . . 119-126

13. **Meyer, J. R.** — ESTUDOS FEITOS COM UM SEGUNDO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL DO CAMONDONGO ENCONTRADO NO INSTITUTO BIOLOGICO DE S. PAULO — Estampas 28-31.
*Experimental studies carried out with a second transplantable adenocarcinoma of the mouse, found in S. Paulo* . . . . . 127-136

14. **Autuori, M.** — CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA (ATTA SPP. - HYMENOPTERA-FORMICIDAE) III - EXCAVAÇÃO DE UM SAÚVEIRO (ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908) — Com 2 figuras no texto e estampa 32.
*Contribution to the knowledge of the "saúva" (Atta spp. — Hymenoptera-Formicidae) III - Excavation of a "saúveiro" (Atta sexdens rubropilosa* FOREL, *1908)* . . . . . 137-148

15. **Autuori, M.** — DADOS A RESPEITO DE "TETRASTICHUS GIFFARDIANUS SILV.", PARASITA DA "CERATITIS CAPITATA WIED." — Com 1 figura no texto e estampa 33.
*Observations on "Tetrastichus giffardianus* SILV.", *parasite of "Ceratitis capitata* WIED." . . . . . 149-162

16. **Meyer, J. R.** — ESTUDO SOBRE A AÇÃO TÓXICA DO EXTRATO DE FOLHAS DE PITEIRA "FOURCRAEA GIGANTEA VENT." — Estampa 34-35.
*Studies on the toxicity of aquous extracts of "Fourcraea gigantea* VENT." . . . . . 163-172

(CONTINÚA)

Pags.

17. **Lepage, H. S.** — DESCRIÇÃO DE ONZE ESPÉCIES NOVAS DE COCCÍDEOS DO BRASIL (HOMOPTERA-COCCOIDEA) — Com 51 figuras no texto.
*Description of eleven new species of Brazilian scale-insects (Homoptera-Coccoidea)* . . . . . 173-189

18. **Orlando, A.** — OBSERVAÇÕES DOS HÁBITOS DE "HELIOTHIS OBSOLETA (FABR.)" COMO PRAGA DAS ESPIGAS DE MILHO E A ELIMINAÇÃO DOS ESTILOS-ESTIGMAS COMO PROCESSO DE COMBATE (LEP. NOCT.) — Com 4 figuras no texto.
*Observations on the behaviour of "Heliothis obsoleta* (FABR.)" *(Lep. Noctuidae), as a pest of the corn ears, and the elimination of the silks as a means of its control* . . . . . 191-207

19. **Bier, O. e E. Trapp** — ADIÇÃO DE NITROGÊNIO A PRECIPITADOS ESPECÍFICOS EM PRESENÇA DE COMPLEMENTO BOVINO.
*Addition of nitrogen from bovine complement to specific precipitates* . . . . . 209-212

20. **Giannotti, O.** — DUAS NOVAS ESPECIES DE COCCIDEOS DO BRASIL (HOMOPTERA-COCCOIDEA) — Com 11 figuras no texto.
*Two new species of Brazilian coccidae (Homoptera-Coccoidea)* . 213-216

21. **Penha, A. M. e M. D'Apice** — VACINAÇÃO CONTRA A PESTE SUINA, COM VACINA MISTA DE SANGUE E BAÇO TRATADOS PELO CRISTAL VIOLETA.
*Vaccination against hog cholera with a mixed vaccine, of blood and spleen treated with crystal-violet* . . . . . 217-231

22. **Toledo, A. A. de** — NOTAS SOBRE A BIOLOGIA DA VESPA DE UGANDA "PROROPS NASUTA WATERST.", (HYM. BETHYL.) NO ESTADO DE S. PAULO-BRASIL — Com 4 figuras no texto.
*Notes on the biology of "Prorops nasuta* WATERST.,". *A parasite of the coffee berry-borer "Stephanoderes hampei* (FERR.)" . . . 233-260

23. **Pereira, C. e W. F. de Almeida** —"AMYLOPHORUS ROCHALIMAI", n. g., n. sp., (CILIATA: BÜTSCHLIIDAE) DO INTESTINO GROSSO DE "DASYPROCTA AZARAE LICHTENSTEIN, 1823)" (RODENTIA: CAVIIDAE) — Com 20 figuras no texto.
*"Amylophorus rochalimai", n. g., n. sp., (Ciliata: Bütschliidae) from the large intestine of "Dasyprocta azarae* LICHTENSTEIN, *1823" (Rodentia: Caviidae)* . . . . . 261-270

24. **Cuocolo, R.** — REAÇÃO FIBROSA DA PAREDE DO ESTÔMAGO DE "TAPIRUS AMERICANUS" PROVOCADA POR "PHYSOCEPHALUS NITIDULANS (SCHNEIDER, 1866)" (NEMATODA: SPIRURIDAE) — Estampas 36-37.
*Fibrous reaction of the stomach wall of "Tapirus americanus" determined by "Physocephalus nitidulans* (SCHNEIDER, *1866)" (Nematoda: Spiruridae)* . . . . . 271-282

(CONTINÚA)

Pags.

25. **Cuocolo, R. e M. J. Mello** — SOBRE OVOS NÃO FECUNDADOS E PSEUDO-OPERCULADOS DE "ASCARIS LUMBRICOIDES L., 1758" (NEMATODA: ASCARIDAE) — Com 17 figuras no texto e estampa 38.
*On the non fecundated and pseudo-operculated eggs of "Ascaris lumbricoides L., 1758" (Nematoda: Ascaridae)* . . . . . 283-290

26. **Bueno, P.** — HISTOPATOLOGIA DOS GANGLIOS LINFÁTICOS NA BRUCELÓSE SUINA — Estampa 39.
*Histopathology of lymph nodes in swine brucellosis* . . . . . 291-298

27. **Penha, A. M. e M. D'Apice** — AGALAXIA CONTAGIOSA DAS CABRAS EM S. PAULO — Estampas 40-41.
*Contagious agalaxia on goats in S. Paulo* . . . . . 299-304

28. **Cuocolo, R.** — RELATÓRIO HELMINTOLÓGICO DA EXCURSÃO CIENTÍFICA A JUQUIÁ REALIZADA PELO DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA EM SETEMBRO E OUTUBRO DE 1940 — Estampa 42.
*Helminthological Report on the scientific trip to Juquiá, by the Zoological Department, in september-october, 1940* . . . . 305-320

Vol. 13 — Art. 1 Setembro de 1942

# ESTUDO DAS CONDIÇÕES PARA A COMPLETA DESTRUIÇÃO DE TODO O SISTEMA NERVOSO CENTRAL NOS MAMIFEROS (*)

POR

P. E. Galvão e J. Pereira Jr.

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com a estampa 1

ALVARO OZÓRIO DE ALMEIDA creou em 1923 uma técnica extremamente engenhosa e simples, tendo por objetivo a destruição total e sem hemorragía de todo o sistema nervoso cerebro espinhal. (6)

O processo descrito por êsse autor é o seguinte: em um cão, preparado para a respiração artificial, introduz-se, no espaço sub-aracnoideo, em punção alta, uma agulha, que é em seguida ligada a uma torneira de água sob forte pressão (cerca de 16 mts. de água, segundo comunicação pessoal do autor). Assim que a água penetra pela agulha, o animal faz alguns movimentos e logo se relaxa completamente. Prolonga-se a compressão durante 10 minutos, findos os quais a agulha é retirada. Dada a continuidade dos espaços sub-aracnoideos, a pressão se faz sentir em toda a cavidade do rachis e do crâneo. Observa-se nitida exoftalmia e desaparição de todos os reflexos. Quando se interrompe a respiração artificial o coração enfraquece e póde parar definitivamente sem que apareça fase alguma de excitação. De outro lado, pela excitação do nervo esplancnico ou pela injeção de nicotina, se obtém forte elevação da pressão arterial.

Dêsses fatos o autor conclúe estar o sistema nervoso central destruido pela asfixia, resultante da compressão dos vasos sanguineos, concluindo também pela integridade dos nervos periféricos e sistema nervoso simpatico.

A técnica original de ALVARO OZÓRIO DE ALMEIDA abre a possibilidade de se obtêr num mamifero a completa abolição da atividade do sistema nervoso central, objetivo que até então não tinha sido possível atingir.

A ninguem escapará, por certo, a importância extraordinária de técnica visando um tal resultado e que permitirá estudar as mais variadas funções do organismo, excluida inteiramente a influência do sistema nervoso central.

---

(*) Trabalho apresentado à Sociedade de Biologia de São Paulo, na sessão de 13 de Março de 1942.

No presente trabalho descrevemos uma série de experiências por nós realizadas no cão, em tôrno do problema da destruição do sistema nervoso central.

De inicio note-se que, sob pressões muito elevadas, a água muito frequentemente se infiltra em grande quantidade na região do pescoço, tornando-a extremamente tensa e impedindo a utilização experimental dessa importante região.

## DISPOSITIVO PARA A COMPRESSÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Baseando-nos na suposição de A. OZÓRIO DE ALMEIDA, de que a destruição das massas nervosas se daria pela asfixia, por oclusão dos vasos, tentámos empregar pressões bem mais baixas, mas seguramente superiores à pressão arterial.

Para tal fim imaginámos o dispositivo seguinte: (Estampa 1, fig. *A*): num frasco graduado -F-, de 5$^{l.}$ de capacidade, munido de uma tubuladura lateral e inferior, introduzem-se cerca de 2$^{l.}$ de liquido. Comprimindo-se a forte pera de borracha -P-, exerce-se pressão sôbre a superficie livre do liquido. Êste se escôa através da tubuladura pelo tubo -B- de borracha, ligado por uma junção em -T- um de cujos ramos se liga ao manômetro de mercurio -M-, graduado até 60 cms. e o outro se continúa por um tubo de borracha -B'-, que por um intermediário se adata exatamente ao pavilhão de um trocater -t-.

Pela compressão da pera -P-, estando pinçada a extremidade do tubo -B'-, eleva-se préviamente o mercurio do manômetro ao nivel de pressão desejado. E' conveniente que mais da metade do frasco seja ocupada pelo ar, para que se obtenha estabilidade da pressão durante a operação.

Descrito o dispositivo de compressão, passamos a descrever o seu emprêgo.

O cão, préviamente anestesiado com morfina e Dial, ou simplesmente por ligeira inalação de eter, é preparado para a respiração artificial e logo fixado em decubito ventral. Um ajudante fléte ao maximo a cabeça do animal sôbre o torax, mantendo-a firme nessa posição. Um trocater, sem bisél, é introduzido quasi horizontalmente, em direção caudal, logo atraz da apófise ocipital externa, bem na linha mediana. Atravessada a péle e os músculos perfura-se, e esse momento se percebe com alguma prática, a membrana ocipito-atloidéa, atingindo-se de pronto a cisterna magna.

O exito da punção se carateriza pelo franco escoamento do liquido cefalo-raquidiano, perfeitamente limpido, ao se retirar o man-

dril do trocater (Estampa 1, fig *B*). Sem deslocar o trocater, liga-se o pavilhão dêste ao intermediário do dispositivo, mantendo-se sempre firme a cabeça do animal. Retirada a pinça da extremidade do tubo -B'- começa-se a marcar o tempo de compressão.

O animal apresenta breve aceleração respiratória, contraturas generalisadas e mais ou menos intensas, que duram cêrca de 1 minuto. Segue-se a parada completa da respiração. Cessadas as contraturas, põe-se a funcionar o fole de respiração artificial, de modo a se obtêr uma insuflação bastante energica. Frequentemente observam-se tremulações fibrilares. Si a pressão do liquido tender a baixar, consegue-se mantê-la estável acionando a pera -P-.

A pressão exercida se faz sentir em toda a extensão do espaço sub-aracnoideo e, pelos foramens de Magendie e de Luschka, a todas as cavidades ventriculares e canal do ependimo. Compreende-se bem que o liquido de compressão entre, assim, em intima relação com todo o sistema nervoso central.

Decorrido o tempo desejado, tendo-se mantido sempre o trocater em posição, pinça-se novamente a extremidade do tubo -B'- e destaca-se o intermediário do pavilhão do trocater. Si não houve deslocamento, sái pelo trocater um játo de liquido.

O animal deve ser aquecido para que se mantenha a temperatura retal de 37° - 38°. E' conveniênte também injetar intraperitonial ou endovenosamente 50 ou 100 cc. de Tyrode, de hora em hora, aproximadamente, devendo-se depois, diminuir o ritmo da insuflação pulmonar.

E' indispensável usar animais jovens e vigorosos, pois os velhos e depauperados sucumbem frequentemente.

## TENTATIVA DE DESTRUIÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL COM ÁGUA E COM SÔRO FISIOLÓGICO

As nossas primeiras tentativas foram feitas utilizando-se a água sob a pressão de 30 cms. de mercurio (que ultrapássa largamente a pressão arterial), com uma duração de 15 minutos.

Certos animais, porém, voltaram a apresentar reflexos e respiração espontânea num prazo variável de 30 minutos e até 2 horas após a compressão.

Deante dêsses resultados, fomos obrigados a aumentar, em experiências sucessivas, o tempo de compressão para 30, 60 e 90 minutos. Com o aumentar dêste tempo foi diminuindo o número de insucessos, mas alguns animais ainda voltavam a apresentar respiração espontânea e reflexos.

Para tão prolongada compressão, era necessário usar-se um dispositivo articulado para a fixação perfeita do trocater, havendo o inconveniente de grande quantidade da água de compressão ser absorvida pelo animal.

Em grande número de casos persistiam, durante todo o tempo de sobrevida, fibrilações intensas e generalisadas.

Deante dos casos de insucesso e para obviar aos inconvenientes da absorpção da grande quantidade de água, experimentámos o emprego do sôro fisiológico a 9‰, sob a pressão de 40 cms. de mercurio, posteriormente elevada a 50 e depois a 60 cms. de mercurio. Nessas condições, foi o tempo de compressão aumentado progressivamente de 15 até 90 minutos.

Para nossa surpreza, todos os animais investigados voltaram a apresentar reflexos e respiração espontânea num praso muito mais curto do que nos casos de insucesso pelo emprêgo de água como liquido de compressão.

Pareceu-nos, portanto, que a destruição do sistema nervoso central não resultava exclusivamente da asfixia por oclusão dos vasos, e por isso voltamos a usar a água sob pressão ainda mais elevada ou seja, de 60 cms. de mercurio, variando os tempos de compressão, de 5 a 60 minutos, sem obtêrmos resultados mais satisfatórios.

Citaremos a seguir duas observações tipicas:

Em um cão, cujo sistema nervoso foi comprimido durante 5 minutos pela água, sob pressão de 60 cms. de Hg., nenhuma infiltração sendo observada, verificou-se que, 11 minutos após, apareciam nas narinas nitidos movimentos acessórios da respiração. Reflexos patelar e corneano, ausentes.

Aos 15 minutos aqueles movimentos se acentúam e aparecem outros nas comissuras labiais bem como nos musculos do pescoço. Reflexo patelar, presente.

Aos 30 minutos, reflexo patelar exaltado, reflexo corneano presente. Asfixiado por parada do fole, morreu sem apresentar movimentos respiratórios, mas ergueu a cabeça 2 vezes antes da parada do coração.

Em outro cão, a compressão do sistema nervoso central com água durou 1 hora, com uma pressão de 60 cms. de mercurio.

Logo após à destruição, verificou completa flacidez muscular, ausência de reflexos, e algumas fibrilações musculares.

15 minutos após, aumento das fibrilações, que aparecem também na comissura labial e na narina direita.

40 minutos após a compressão, tremulações generalizadas, particularmente acentuadas nos membros posteriores. Reflexos ausentes.

1 hora após, extensão do membro posterior direito, mantido assim durante 10 minutos, ao cabo dos quais se manifestou rigidez acentuada dêsse membro.

1 hora e 50 minutos depois, movimento de flexão da pata posterior direita, continuando intensa fibrilação generalizada, que perdurou até o sacrificio do animal. Os reflexos continúam sempre ausentes.

Decorridas 3 horas da destruição, asfixiou-se prolongadamente o animal, observando-se aumento das fibrilações nêsse momento. 5 horas após a destruição, foi o animal sacrificado por parada do fole, resistindo ele durante 6 minutos e meio à asfixia, sem apresentar nenhum movimento respiratório ou qualquer reflexo.

Nesta experiência o animal absorveu 700 cc. de liquido de compressão. Verificou-se também completa ausência de infiltração de água nos tecidos.

Do conjunto das nossas experiências resulta que em muitos casos não se consegue a destruição completa das funções do sistema nervoso central pelo emprêgo da água como liquido de compressão sob pressões de 30 até 60 cms. Hg., com durações que variam de 15 até 90 minutos.

E' necessário aliás acentuar que as pressões por nós utilizadas foram menores que as empregadas por A. Ozório de Almeida, que trabalhou, como acima foi dito, com pressões 2 vezes maiores, ou seja 120 cms. de Hg.

Com o sôro fisiológico, nas condições de pressão e tempo, em que trabalhámos, em caso algum obtivémos exito.

## DESTRUIÇÃO PERFEITA DE TODO O SISTEMA NERVOSO CENTRAL COM SOLUÇÃO HIPERTÔNICA DE NaCl, SOB PRESSÃO

Em face das experiências comparativas feitas com água e com sôro fisiológico, é forçoso concluir-se que nos casos de destruição, esta não é devida exclusivamente à asfixia por oclusão dos vasos, mas principalmente à ação nociva da água sôbre o tecido nervoso.

Baseados nesta verificação e na esperança de que uma solução hipertonica de cloreto de sodio a 20% possuisse ação mais nociva que a água sôbre as funções nervosas, passámos a empregá-la como liquido de compressão, usando, como sempre, o dispositivo já descrito à pag. 2.

De fato verificámos que com êsse liquido, usando-se a pressão de 60 cms. Hg., são sufi-

cientes apenas 6 minutos para se obtêr completa e definitiva destruição de todo o sistema nervoso central.

A nossa experiência com esta técnica atinge, no momento, a cerca de 50 cães, tendo-se mostrado esta sempre perfeitamente satisfatória.

Em nenhum caso se verificou coleção de liquido de compressão, nem no ponto de introdução do trocater, nem em qualquer outro. Dada a curta duração da operação, o trocater era simplesmente mantido manualmente em posição.

A quantidade de cloreto de sódio a 20% absorvida pelo animal foi sempre pequena, oscilando entre 40 cc. e 120 cc., o que certamente não traz inconvenientes para as condições gerais do animal.

Foram deliberadamente escolhidos para estas experiências animais de porte muito variado, cujos pesos oscilavam entre 3 kg. 500 e 24 kg. 000.

A sobrevida dos animais acha-se compreendida entre 5 e 12 hs., tendo-se apenas o cuidado de manter-lhes a temperatura e injetar-lhes intervaladamente liquido de Tyrode.

Em nenhum caso até agora observado se encontrou qualquer indicio de atividade do sistema nervoso central, durante toda a sobrevida, como demonstram detalhadamente as numerosas e variadas pesquisas relatadas em outros trabalhos (1, 2, 3, 4 e 5).

## CONCLUSÕES

1.º) — Foi creado um dispositivo para comprimir o sistema nervoso central que permite controlar exatamente as condições de pressão e liquido utilisado para a sua destruição.

2.º) — Verificou-se que a destruição do sistema nervoso nem sempre é completa, quando se utiliza água, sob pressão até 60 cms. Hg. durando a compressão até 90 minutos.

3.º) — Substituindo-se a água pelo sôro fisiológico, nas mesmas condições, em nenhum caso se obteve destruição completa.

4.º) — Daí se conclúe que a pressão exercida sôbre o sistema nervoso central, si bem que largamente suficiente para produzir a sua asfixia, por oclusão dos vasos, durante a compressão, não é suficiente para destrui-lo "in-totum".

5.º) — A destruição perfeita do sistema nervoso central se consegue seguramente pelo emprêgo de solução a 20% de NaCl, sob pressão de 60 cms. Hg., durante 6 minutos.

## STUDIES ON THE CONDITIONS FOR THE COMPLETE DESTRUCTION OF THE ENTIRE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN MAMMALS

*Abstract*

*A technique is presented for the destruction of the entire central nervous system by forcing a 20% NaCl solution under considerable pressure into the Cisterna Magna.*

*The following device is used (Plate 1, fig. A): a 5l. graduated flask -F- with a lateral and inferior outlet is half filled with the 20% solution of NaCl. By pumping -P-, a pressure is established and the solution flows through the rubber tube -B- which is connected with a mercury manometer -M- and with tube -B'-. Before the experiment a pressure of 60 cms. Hg is established.*

*In a dog prepared for artificial respiration, a punction needle -t- is introduced into the Cisterna Magna (Plate 1, fig. B), and then connected with tube -B'-.*

*So the pressure is exercised in the Cisterna Magna and the liquid forced into the sub-arachnoid, central canal and ventricular spaces.*

*The compression is maintained for 6 minutes.*

*No more than 120 cc. of the solution are absorbed and no infiltration at all is observed.*

*No signs at all of any activities of the central nervous system have been found during the 5-12 hours of the animal's survival as will be thoroughly demonstrated in the next papers (1, 2, 3, 4 e 5).*

*Under the same conditions, neither water nor physiological solution are apt to assure a complete destruction of all activities of the central nervous system.*

### BIBLIOGRAFIA

1 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências da destruição do sistema nervoso central pela técnica de compressão com solução hipertônica de NaCl. I — Inexcitabilidade dos centros reflexos. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo 13, 9-11.

2 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências, etc. II — Inexcitabilidade dos centros nervosos ao estimulo diréto. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 13, 13-16.

3 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências, etc. III — Completa insensibilidade a doses maciças de estriquinina. *Rev. Brasil. de Biologia*, Rio de Janeiro, 2, 173-175.

4 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências, etc. IV — Quéda limite da pressão arterial. *Rev. Brasil. de Biologia*, 2, 177-183.

5 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências, etc. V — Abolição da atividade dos centros cardio-vasculares. *Rev. Brasil. de Biologia*, Rio de Janeiro. 2, 185-192.

6 — Ozorio de Almeida, A. — 1923 — Sur un nouveau procédé de destruction totale, rapide et sans hemorragie du systéme nerveux cerebro-spinal. *Compt. rend. Soc. de Biologie*, Paris 89, 921-925.

Fig. *A* — Dispositivo para a destruição do sistema nervoso central

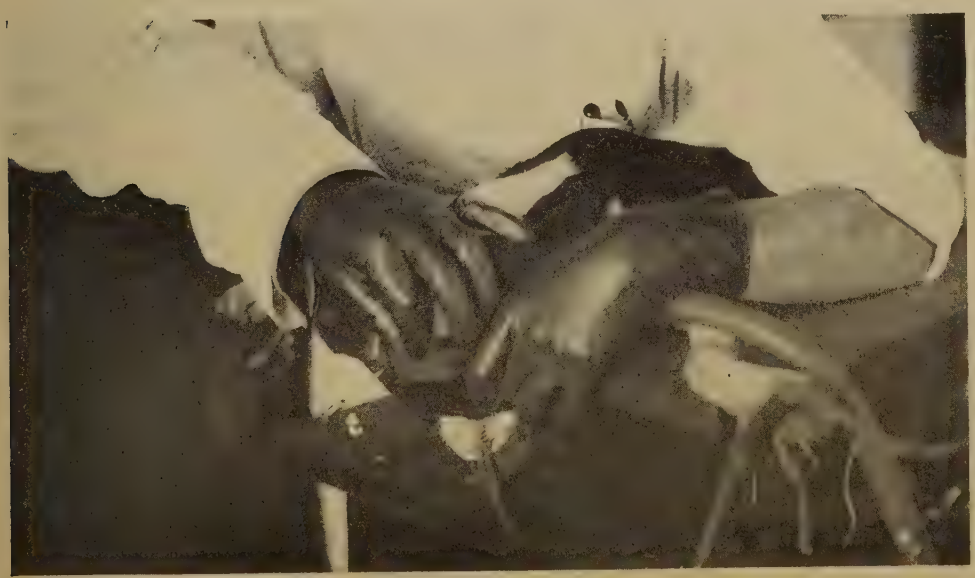


Fig. *B* — Punção da Cisterna Magna

# EVIDÊNCIAS DA DESTRUIÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL PELA TÉCNICA DE COMPRESSÃO COM SOLUÇÃO HIPERTÔNICA DE NaCl

## I. INEXCITABILIDADE DOS CENTROS REFLEXOS (*)

POR

P. E. Galvão e J. Pereira Jr.

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Em trabalho anterior (1) descrevemos um método que permite a destruição completa de todo o sistema nervoso central, em 6 minutos, pela solução a 20% de NaCl, sob pressão de 60 cms. Hg.

Começamos aqui o relato de uma série de experiências que demonstram a completa ausência de função do sistema nervoso central nos animais assim tratados.

No presente trabalho resumiremos o resultado de numerosas observações sôbre a inexcitabilidade reflexa do sistema nervoso central de tais animais.

Em todos os cães investigados, desde logo após a compressão do sistema nervoso central, até o momento da morte, observamos:

### 1.º) ABOLIÇÃO DE REFLEXOS

Foi registrada completa e definitiva ausência dos seguintes reflexos: luminoso, palpebral, conjuntival, corneano, abdominal, cremasterino, flexor da pata, patelar e tendinoso do triceps, todos sistematicamente pesquizados.

Também não se consegue provocar reflexo algum por estimulo da mucosa bucal ou da lingua, nem da mucosa anal.

Do mesmo modo, ao estimulo mecânico brutal, à queimadura da pele e à lesão de estruturas profundas, não há reação alguma reflexa ou dolorosa. Assim o animal pode ser submetido às mais variadas e traumatisantes operações, dispensando-se absolutamente a anestesia.

Podemos contrastar o desaparecimento definitivo dos reflexos, nos cães com o sistema nervoso central destruido, com a abolição passageira que se observa no choque espinhal, resultante da seção da medula, praticada em animais normais. Nêste último caso é classico,

---

(*) Trabalho apresentado à Sociedade de Biologia de São Paulo, na sessão de 13 de Março de 1942.

e nós o verificámos frequentes vezes, que o reflexo flexor nociceptivo não desapareça e o reflexo patelar volte alguns minutos após à seção alta da medula.

### 2.º) AUSÊNCIA DE TONUS

O cão se apresenta completamente flacido, mostrando absoluta ausência de tonus muscular.

Póde-se fazer variar à vontade a posição relativa dos diversos segmentos do corpo, sem que por isso se provoque qualquer reflexo postural, apresentando-se portanto o animal como uma massa inerte.

Excepcionalmente observa-se, logo após à destruição, uma forte contratura dos membros, que póde durar até 30 minutos, mas sempre com abolição total dos reflexos. Essa contratura desaparece depois, completa e definitivamente.

Nêstes raros casos, como o demonstramos em outra publicação (2), cessados êsses fenômenos, o sistema nervoso se acha completamente destruido.

A razão dêsse fenômeno não é clara, mas póde-se pensar numa fase de irritação das raizes motoras pelo sôro hipertônico, mais prolongada nêsses animais e precedendo à sua destruição.

### 3.º) INEXCITABILIDADE DAS RAIZES RAQUIDIANAS

Procurámos também verificar o funcionamento das raizes raquidianas.

Para isso abriamos o canal medular ao nivel da 1.ª e 2.ª vertebras toraxicas. Tanto a raiz anterior como a posterior foram encontradas inexcitaveis ao estimulo mecânico.

O mesmo resultado se observou para a excitação faradica fraca. A faradização forte das raizes anteriores e posteriores era seguida de contrações dos musculos vizinhos, evidentemente devidas é difusão fisica da corrente, visto que essas contrações persistiam depois do esmagamento das raizes por ligaduras.

A inexcitabilidade, assim comprovada, das raizes raquidianas, era de esperar, visto que, banhadas pelo mesmo liquido contido nos espaços sub-aracnoideos, foram submetidas às mesmas condições do sistema nervoso central.

### 4.º) CONSERVAÇÃO DA EXCITABILIDADE DOS NERVOS E MUSCULOS

Faradizámos a extremidade periférica dos nervos ciatico e crural, obtendo-se a resposta tetânica dos muculos por êles inervados. O mesmo verificámos, como será relatado em outro trabalho, em relação ao grande esplacnico e ao vago.

Isso demonstra que o sistema nervoso periférico conserva a sua excitabilidade e condutibilidade.

Ao contrário, a excitação da extremidade central dêsses nervos, como era de esperar, não provoca resposta.

## CONCLUSÕES

As seguintes provas da destruição do sistema nervoso central, pelo método descrito anteriormente, são apresentadas nêste trabalho:

1.º) — Abolição total e definitiva dos reflexos.

2.º) — Ausência completa de tonus muscular e de reflexos posturais.

3.º) — Inexcitabilidade das raizes raquidianas, dentro do canal medular.

4.º) — Os musculos e os nervos periféricos se mantêm bem excitaveis.

## EVIDENCES OF THE DESTRUCTION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM BY THE TECHNIQUE OF COMPRESSION WITH NaCl HYPERTONIC SOLUTION

### I. INEXCITABILITY OF THE REFLEX CENTERS

*Abstract*

*The following evidences of the destruction of the central nervous system by the method previously described (1) are here presented:*

*1) Total and permanent abolition of all reflexes.*

*2) Complete and permanent absence of muscular tonus and postural reflexes.*

*3) Absolute inexcitability of the nerve roots. The muscles and peripheral nerves retain their excitability and conductivity.*

## BIBLIOGRAFIA

1) Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Estudo das condições para a completa destruição de todo o sistema nervoso central nos mamíferos. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, **13**, 1-8.

2) Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências da destruição do sistema nervoso central pela técnica de compressão com solução hipertônica de NaCl. III — Completa insensibilidade a doses maciças de estriquinina. *Revista Brasil. de Biol.*, Rio de Janeiro, 2, 173-175.

———o———

# EVIDÊNCIAS DA DESTRUIÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL PELA TÉCNICA DE COMPRESSÃO COM SOLUÇÃO HIPERTÔNICA DE NaCl

## II. INEXCITABILIDADE DOS CENTROS NERVOSOS AO ESTIMULO DIRETO (*)

POR

P. E. Galvão e J. Pereira Jr.

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com a estampa 2

Continuando a serie de verificações para provar a completa destruição do sistema nervoso central (2) pela técnica descrita em trabalho anterior (1), passaremos a relatar os resultados da estimulação direta dos centros nervosos, obtidos nas numerosas experiências que praticámos.

Fazia-se, antes da destruição do sistema nervoso, uma ligeira anestesia com éter, que seguramente se dissipa alguns minutos após. As regiões do sistema nervoso que estudámos foram a medula espinhal, bulbo e cerebro.

### 1.º) ESTIMULAÇÃO DIRETA DA MEDULA ESPINHAL

A medula era posta largamente a descoberto por laminectomia da 1.ª e 2.ª vertebras dorsais no cão com o sistema nervoso destruido. O aspécto da sua superficie exterior nêsses animais, aparentemente não difére do aspécto da medula normal.

A circulação na medula se processa perfeitamente e por sangue bem oxigenado. Com efeito, suspendendo-se a medula espinhal por um fio grosso embebido em sôro, passado sob a face ventral, verifica-se o empalidecimento do orgão no ponto de maior tração do fio. Relaxando o fio, restabelece-se a coloração rosada anterior.

A estimulação direta da superficie externa ou da superficie de corte da medula por corrente faradica fraca, nenhuma reação provoca. Aumentando-se a intensidade da corrente observa-se contração dos musculos da visinhança, devida à difusão fisica da corrente. De fato, esses efeitos pódem ser completamente eliminados pelo minucioso isolamento elétrico da medula, mediante esparadrapo, tendo-se o cuidado de secar bem o orgão com algodão. Voltam os referidos efeitos quando se humedece com Tyrode essa preparação.

---

(*) Trabalho apresentado à Sociedade de Biologia de São Paulo, na sessão de 13 de Março de 1942.

A estimulação mecânica é também inteiramente ineficaz. Assim o contacto de objetos metalicos, a pressão, o pinçamento e a seção da medula não provocam reação alguma de natureza motora ou sensitiva.

Seja citado entre outros, o seguinte protocolo:

Experiência de 13 de novembro de 1941.

Cão de 5 Kg 070. Ligeira anestesia com éter.

Destruição do sistema nervoso central às 14h.35'.

Consumo do liquido de compressão: 80 cc.

Às 14 h. 40', injeção intraperitonial de 100 cc. de Tyrode.

Às 16 h. 30', excitação faradica das raizes anterior e posterior: aumenta-se a intensidade da corrente aproximando-se o secundário de 16 cms. até 0 cms.; absolutamente negativa.

A seguir, a excitação direta da medula espinhal, com corrente fraca, não provoca resposta alguma. A corrente forte provoca contrações dos musculos do dorso, mais proximos.

Secando-se a medula com algodão e isolando-a com esparadrapo, essas contrações desaparecem.

A excitação mecânica é inteiramente ineficaz.

### 2.º) ESTIMULAÇÃO DIRETA DO BULBO

Descobre-se amplamente a membrana ocipito-atloidéa. Para evitar hemorragia é ela incisada longitudinalmente em toda a sua extensão e transversalmente, rente ao bordo do ocipital. Rebatem-se os retalhos para os lados e, infletindo-se fortemente a cabeça do animal, põe-se a descoberto a região do quarto ventriculo, cujo soalho póde ser excitado depois de rompida a membrana tectoria.

Nos cães normais profundamente anestesiados por morfina e Dial, pela estimulação faradica do soalho do quarto ventriculo provocamos os conhecidos efeitos, quer de aumento de frequência e amplitude dos movimentos respiratórios, quer de apnéa, sempre obtendo-se forte elevação da pressão arterial (Estampa 2, figs. *A* e *B*), por atuação sôbre os centros bulbares reguladores da respiração e da circulação. Além disso, fortissima reação motora generalisada se evidencia.

Nos animais de sistema nervoso destruido observamos completa ausência de todos êsses efeitos. (Estampa 2, fig. *C*).

### 3.º) ESTIMULAÇÃO CEREBRAL

A faradisação fraca das areas motoras corticais, no normal, determina classicamente, e isso se verifica com facilidade, movimentos contra-laterais, cuja localização depende do ponto estimulado. Sabe-se também que por um aumento da intensidade do estimulo se consegue obtêr um verdadeiro quadro epileptiforme.

No cão de sistema nervoso destruido verificámos completa inexcitabilidade dessas areas corticais, por mais intenso que fosse o estimulo.

## CONCLUSÕES

No animal com o sistema nervoso central destruido em 6 minutos, pela solução a 20% de NaCl, sob pressão de 60 cms. de Hg., verifica-se em experiências de excitação direta:

1.º) completa inexcitabilidade da medula espinhal;
2.º) completa inexcitabilidade do bulbo;
3.º) completa inexcitabilidade das zonas motoras do cerebro.

Dos fatos aqui expostos deve-se concluir que pelo emprego da técnica descrita em trabalho anterior, as varias partes do sistema nervoso central perderam definitivamente a sua excitabilidade e conductibilidade.

## EVIDENCES OF THE DESTRUCTION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM BY THE TECHNIQUE OF COMPRESSION WITH NaCl HYPERTONIC SOLUTION

### II. INEXCITABILITY OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM BY DIRECT STIMULATION

*Abstract*

*In the dog whose central nervous system has been destroyed by a 20% NaCl solution under 60 cm. Hg pressure, during 6 minutes (1) we have found by direct stimulation experiments:*

*1.º) Complete inexcitability of the spinal cord, when mechanically or electrically stimulated, precautions being taken against the physical diffusion of currents.*

*2) Complete inexcitability of the medulla oblongata. Plate 2, fig. A and B show the effect of direct stimulation of the floor of the fourth ventricle under normal conditions, and fig. C, after the destruction of the central nervous system.*

*3) Complete inexcitability of the motor areas of the brain.*

## BIBLIOGRAFIA

1 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Estudo das condições para a completa destruição de todo o sistema nervoso central nos mamiferos. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 13, 1-8.

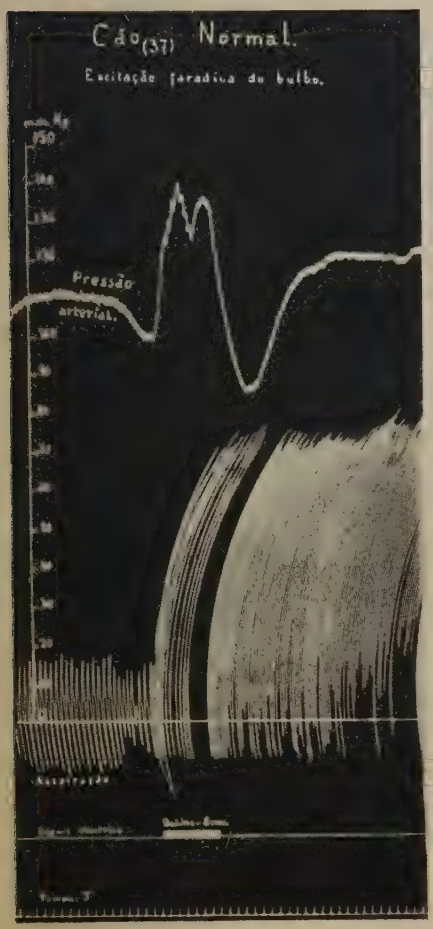
2 — Galvão, P. E. e Pereira Jr., J. — 1942 — Evidências da destruição do sistema nervoso central pela técnica de compressão com solução hipertônica de NaCl. I — Inexcitabilidade dos centros reflexos. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 13, 9-11.

———o———

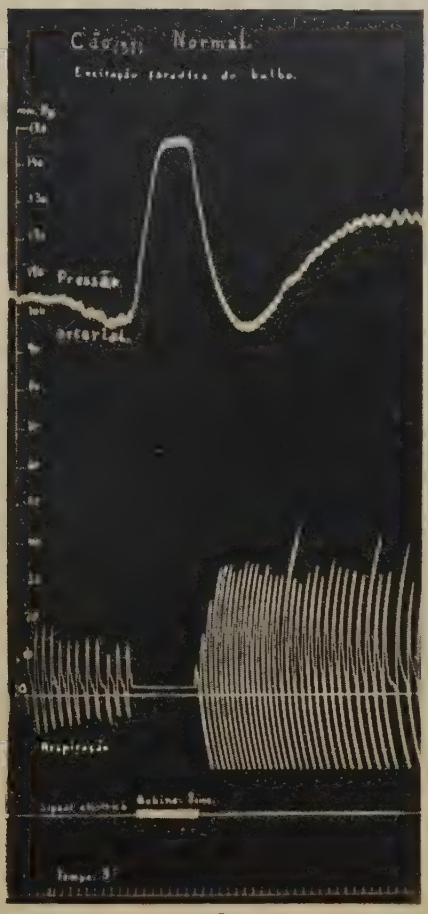
## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 2

Figs. *A* e *B* — Efeitos respiratorios e circulatorios da estimulação do soalho do 4.º ventriculo, no cão normal.

Fig. *C* — Ausencia de efeitos respiratorios e circulatorios, por estimulação do soalho do 4.º ventriculo, no cão submetido à técnica de destruição do sistema nervoso central.


Cão (37) Normal.
Excitação faradica do bulbo.
Pressão arterial.
Respiração

*A*


Cão (37) Normal.
Excitação faradica do bulbo.
Pressão arterial.
Respiração

*B*

Cão (38) Sistema Nervoso Central Destruido
Excitação Faradica do Bulbo.
Pressão arterial.
Insuflação pulmonar
Parada da insuflação
Signal electrico
Excitação faradica do Bulbo. Secundario-Bems.
Tempo: 3 seg.

*C*

# SOBRE A PRESENÇA DA "SALMONELLA GALLINARUM" NOS OVOS DE GALINHAS PORTADORAS DE TIFO AVIÁRIO

POR

P. Nóbrega e R. C. Bueno

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Não há na literatura dados positivos sobre o isolamento da *Salmonella gallinarum* dos ovos de galinhas portadoras de tifo aviário. Encontram-se todavia referências ao isolamento do germe do ovário dessas aves (1-2-4-5-7), da gema não reabsorvida de pintos novos (2) e da gema de embrião morto na casca (3) o que demonstra a possibilidade de ocorrer eventualmente no tifo aviário um ciclo de infecção idêntico ao da pulorose.

O aparecimento, entre nós, de várias epizootias de tifo em pintos, algumas de evolução muito grave e de mortalidade tão elevada que chegou a atingir num caso 80% dos animais doentes, levou-nos a fazer um estudo da incidência da *Salmonella gallinarum* nos ovos das galinhas portadoras.

## MATERIAL E TÉCNICA DE TRABALHO

Foram utilizados 3 lotes de 18, 8 e 26 aves, respetivamente, provenientes de granjas onde se verificaram epizootias de tifo em pintos. Todas as aves reagiram positivamente aos métodos lento e rápido (este com sangue total e antígeno colorido) de aglutinação, empregados para pesquiza de portadores de pulorose.

No presente trabalho pesquisamos a *Salmonella gallinarum* apenas em ovos frescos e seguimos a técnica adotada por MALLMANN e MOORE (8) no estudo dos ovos de galinhas portadoras de pulorose. Os ovos a examinar são colocados previamente na estufa a 37°C durante 3 dias, ao fim dos quais a gema é semeada num balão com 100 cc. de caldo glicosado. Para se abrir o ovo sem perigo de contaminação, ele é colocado num suporte, desinfetado com alcool e submetido, na zona da casca correspondente à câmara de ar, a um jato fino da chama do maçarico. Em virtude do aquecimento súbito do ar, fragmentos da casca são removidos, deixando à vista a membrana da casca. A gema é então pipetada e semeada no balão de caldo glicosado, que é incubado a 37°C. durante 7 dias. Ao fim desse tempo semea-se o material em caldo simples e placas de Teague e faz-se identificação das culturas

isoladas. Para caracterização da *Salmonella gallinarum* seguimos o critério comumente adotado e que permite uma nítida e facil distinção entre este germe e a *Salmonella pullorum* (6, 9, 10).

EXPERIÊNCIA N.º 1

Foram utilizadas 18 aves procedentes duma granja onde se observaram numerosos casos de tifo aviário em pintos. O número total de ovos examinados foi de 750 e a *Salmonella gallinarum* foi isolada em 21 casos, o que representa uma incidência de 2,8%. Não foi feita identificação dos ovos, de modo que não tivemos uma relação dos ovos postos pelas galinhas consideradas individualmente. Estas foram sacrificadas no fim da experiência, e em todos os casos conseguimos isolar a *Salmonella gallinarum* do ovário, que se apresentava sempre irregular e de aspécto idêntico ao que se observa na pulorose.

EXPERIÊNCIA N.º 2

O lote de galinhas, em número de 8, utilizado nesta experiência, procedeu igualmente duma granja onde constatámos casos de tifo em pintos. Todos os ovos, em número de 253, foram identificados em relação à galinha de procedência, mas o exame foi absolutamente negativo quanto à presença de *Salmonella gallinarum*. Todas as 8 aves foram sacrificadas e de todas sem exceção isolamos a *Salmonella gallinarum* exclusivamente do ovário. Este se apresentava sempre muito irregular, com numerosos óvulos pediculados e murchos.

EXPERIÊNCIA N.º 3

Examinamos 462 ovos de 26 galinhas portadoras de tifo aviário e encontramos 8 amostras típicas de *Salmonella gallinarum*, o que representa uma incidência de 1,73%. Estas 8 amostras foram isoladas de 5 galinhas, sendo o exame dos ovos das 21 restantes completamente negativo.

A tabela abaixo resume os resultados obtidos:

Incidência da *Salmonella gallinarum* em ovos frescos de galinhas portadoras

| N.º de aves | N.º de ovos | Positivos | |
|---|---|---|---|
| | | N.º | % |
| 18 | 750 | 21 | 2,8 |
| 8 | 253 | 0 | 0 |
| 26 | 462 | 8 | 1,73 |
| Total | 1465 | 29 | 1,97 |

RESUMO

Os AA. pesquisam em 3 lotes de galinhas portadoras de tifo aviário a incidência da *Salmonella gallinarum* nos ovos frescos. Foi examinado um total de 1.465 ovos, dos quais 29, representando uma incidência de 1,97%, forneceram culturas puras de *Salmonella gallinarum*. Considerando isoladamente, os 3 lotes apresentaram uma porcentagem de infecção dos ovos de 2,8% 0% e 1,73% respetivamente. Esses números são muito pequenos quando comparados com o resultado de 21,3% de infecção nos ovos frescos provenientes de galinhas portadoras de pulorose (8). E' possivel todavia, a exemplo do que sucede nesta doença, que se observe uma incidência maior nos ovos ferteis e nos embriões mortos na casca. Neste sentido se orientam atualmente nossos estudos, cujos resultados serão oportunamente publicados.

ON THE PRESENCE OF "SALMONELLA GALLINARUM" IN FRESH EGGS OF HENS RECOGNIZED AS CHRONIC CARRIERS OF FOWL TYPHOID

*Abstract*

*1.465 eggs laid by 52 hens shown to be chronic carriers of fowl typhoid were searched for the presence os Salmonella gallinarum.*

*The fowls, which gave positive reactions when blood-tested with the antigen used in the routine work of pullorum-disease eradication, came from three different flocks where severe outbreaks of fowl typhoid among chicks had been observed.*

*All the examined eggs were fresh and non fertile.*

*The incidence of eggs harbouring Salmonella gallinarum in the three lots of fowls were 2,8, 0 and 1,73% respectively. These figures are low when compared with those referred to in the litterature as representing the percentage of infected eggs laid by chronic carriers of pullorum disease.*

*Based on what is known to hold for pullorum disease, the authors believe that the incidence of infected eggs in their trials might be higher if fertile instead of fresh eggs had been examined.*

BIBLIOGRAFIA

1 — Beach, J. R. e Davis, D. E. — 1927 — Acute infection of chicks and chronic infection of the ovaries of hens caused by the fowl-typhoid organism. *Hilgardia*, 2, 529-549.

2 — Beaudette, F. R. — 1925 — The possible transmission of fowl-typhoid through the egg. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 67, 741-745.

3 — Beaudette, F. R. — 1930 — Fowl-typhoid and bacillary white diarrhea. *11th Intern. Vet. Congr.*, 3, 705-720.

4 — Doyle, T. M. — 1925 — Bacillary white diarrhea of chicks. *Jour. of Comp. Path. a. Therap.*, 38, 266-282.

5 — Edwards, P. R. e Hull, F. E. — 1929 — Bacillary white diarrhea and related diseases of chicken. *Kent. Agr. Exp. Sta.*, B. 296, 237-280.

6 — Hinshaw, W. R. — 1941 — Cysteine and related compounds for differentiating members of the Genus Salmonella. *Higardia*, 13, 583-621.

7 — Kaupp, B. F. e Dearstyne, R. S. — 1925 — Fowl-typhoid and fowl-cholera. *N. C. Agr. Exp. Sta.*, B.27, 83.

8 — Mallmann, W. L. e Moore, J. M. — 1936 — Studies of pullorum disease. The incidence of Salmonella pullorum in eggs from infected hens. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 42, 35-42.

9 — Nóbrega, P. — 1935 — Diferenciação entre Salmonella pullorum e Salmonella gallinarum. Papel importante do bacteriofago. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 6, 71-84.

10 — Reis, J. e Nóbrega, P. — 1936 — *Doenças das Aves.* Tratado de Ornitopatologia, Ed. Inst. Biológico, S. Paulo, pp. 110-113 e 143-144.

Vol. 13 — Art. 5 Setembro de 1942

# IDENTIDADE DOS TOXOPLASMAS DE AVES E DE MAMÍFEROS

POR

P. Nóbrega e J. Reis

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 1 figura no texto e estampas 3-6

Embora exista entre os protozoologistas acentuada tendência a considerar como pertencentes a uma só espécie os toxoplasmas descritos nas mais diversas espécies animais, salienta WOLFSON (9), em trabalho recente, que até agora não se publicou documentadamente a transmissibilidade de toxoplasmas isolados de ave, a mamiferos.

Em 1909 CARINI (1) conseguiu infetar pombos com o toxoplasma de coelho, anteriormente descrito por SPLENDORE (8, 9), e em 1911 refere a infecção espontânea do pombo por um toxoplasma que identifica a *T. cuniculi*, sem contudo dizer se realizou provas de transmissão da doença a coelhos (2).

Na opinião de WOLFSON, só em duas ocasiões foi a toxoplasmose aviária experimentalmente reproduzida, e em ambas na mesma espécie de hospedeiro: são os casos de REIS e NOBREGA (3) e de ROSENBUSCH (4), que transmitiram a doença a pombos e canários, respetivamente.

Morfologicamente, não encontra WOLFSON diferença entre os toxoplasmas estudados por ROSENBUSCH em canários, REIS e NOBREGA em pombos, e SABIN e OLITSKY em camondongos.

O toxoplasma de origem humana, recentemente estudado, é, segundo SABIN (6, 7), do ponto de vista morfológico e sorológico, idêntico ao de mamífero, sendo tambem experimentalmente transmissivel a pintos.

Para provar, porem, a identidade dos toxoplasmas de mamífero com os de ave, faltava ainda a demonstração de que o toxoplasma espontâneo de aves fosse capaz de infetar mamíferos. Esse é o objetivo do presente trabalho, que inclue tambem algumas observações sobre a doença nos pombos e sua transmissão a pintos. (*)

## A TOXOPLASMOSE EM POMBOS

A toxoplasmose ocorre com frequência entre os pombos, em S. Paulo, sendo muito elevada a mortalidade, tanto na infecção espon-

(*) Já se achava pronto o presente trabalho quando nos chegou às mãos o número 1 do vol. 2 da Revista Brasileira de Biologia (março de 1942), no qual aparece uma publicação de GUIMARÃES e MEYER (pgs. 123-129) na qual esses autores referem a patogenicidade da nossa amostra, que fora por um de nós (J. R.) enviada ao Prof. CARLOS CHAGAS FILHO, para diversos mamíferos (cães, gatos, coelhos, cobaias, camondongos).

tânea quanto na experimental (3). E' de CARINI (1, 2) a primeira verificação da doença em nosso país.

Segundo WOLFSON, o único registo da transmissão experimental da toxoplasmose dos pombos, que se encontra na literatura, é o de REIS e NOBREGA (3), que demonstraram a possibilidade de se transmitir a doença de pombo a pombo, indefinidamente, com 100% de mortalidade.

Com o toxoplasma de pombo utilizado neste trabalho já se fizeram 20 passagens consecutivas em pombos; todos os animais inoculados morreram após 12 dias, em média. Em todas as passagens usámos como material infetante, por via intramuscular, 0.5 cc. de suspensão a 10%, em agua fisiológica, filtrada em gaze, de tritutado de fígado de pombo morto de toxoplasmose.

Os animais inoculados nada apresentam, em geral, até o 8.º ou 9.º dia após a inoculação, mas a partir desse prazo começam a entristecer, apresentando-se arripiados e de olhos cerrados, com as pálpebras muitas vezes grudadas em consequência da secreção ocular, que é constante e particularmente abundante no dia que precede à morte.

A necrópsia mostra sempre hipertrofia do fígado e do baço, que se apresentam com acentuada côr castanha. Não se notam os pontos de necrose que geralmente se observam no fígado e baço dos mamíferos atacados de toxoplasmose, nem o exsudato da pleura e do peritônio, frequentes nestes animais.

Os toxoplasmas são particularmente abundantes nos esfregaços de fígado e baço e na secreção conjuntival. Apresentam-se na maioria livres, mas alguns acham-se englobados por células monocíticas.

Fora do organismo, ou no cadaver, o toxoplasma perde rapidamente a virulência, de modo que as passagens devem ser feitas, de preferência, no mesmo dia da morte ou, no máximo, dentro de 4 ou 5 dias após esta, conservado o material em geladeira, à temperatura de 4º C.

Conservados a 23ºC., fígado e baço ricos de toxoplasma apresentam-se completamente inócuos já após 24 horas. Conservado na geladeira a 0º C. o prazo máximo de atividade é de 4 dias, e de 7 dias quando a 4º C.

## PODER PATOGÊNICO DO TOXOPLASMA DE POMBOS PARA OUTROS ANIMAIS

Como material infetante usou-se suspensão a 10%, em água fisiológica, de fígado de pombo morto de toxoplasmose.

Inoculação em coelhos — Morrem num prazo de 4 a 9 dias os coelhos inoculados por via intravenosa (dose: 0.5 cc.). A necrópsia revela lesões semelhantes em todos eles: manchas necróticas

espalhadas pela superfície do fígado, lembrando o que se vê na pasteurelose; congestão pulmonar com zonas de enfisema. Baço muito aumentado, de côr castanha escura e com manchas iguais às do fígado. Abundante exsudato seroso nas cavidades, principalmente na peritonial. Acentuada congestão das paredes do intestino e do peritônio. Em alguns casos, hemorragias puntiformes nos rins.

O exame do exsudato a fresco (ocular 10 X, objetivas 40 e 90 Zeiss) revela formas típicas e numerosas de toxoplasma, livres ou na maioria englobados em células monocíticas.

Morrem em 5 dias dois coelhos inoculados no peritônio, e em 7 e 10 dias, respetivamente, dois outros, inoculados subcutaneamente (dose: 0.5 cc.). Todos apresentam lesões idênticas às acima descritas.

A inoculação intracutânea de 4 coelhos com 0.05 cc. determinou a morte deles em 12, 9 e 10 dias, sendo dois neste último prazo. Alem das lesões acima descritas observou-se, nestes casos, infiltração da pele no ponto de inoculação, com formação de nodulo necrótico de 1 a 2 centímetros de diâmetro; eventualmente havia tumefação e congestão dos gânglios da região inguinal.

Inoculação em cobaias — De 9 cobaias inoculadas no peritônio (dose: 0.3 cc.) 2 morrem em 4 dias, 2 em 5; 4 em 6; e 1 em 9.

A necrópsia revela abundante exsudato seroso nas cavidades pleural e peritonial, rico de toxoplasmas, na maioria englobados; congestão do peritônio e intestino; hipertrofia do fígado e do baço, que às vezes apresentam côr castanha e pequenos pontos de necrose; pulmão congesto, com áreas brancacentas.

Morrem em 6 dias duas cobaias inoculadas subcutaneamente (dose 0.3 cc.), apresentando necrose na área de inoculação, tumefação e congestão dos gânglios inguinais, alem das alterações referidas quanto às cobaias inoculadas no peritônio. Abundam os toxoplasmas nos exsudatos, no pulmão, no baço, no fígado e nos gânglios inguinais.

Inoculação em camondongos — Doze camondongos inoculados no peritônio (dose 0.02 cc.) morrem num prazo de 5 a 8 dias. Dois deles apresentavam, à necrópsia, apenas aumento do fígado e baço. Os demais apresentavam, alem disso, pequenas manchas de necrose, numerosas na superfície do fígado e baço, e eventualmente no rim e no pulmão. Tambem há frequentemente condensação de parasitas nos esfregaços do fígado, baço e pulmão.

Quatorze camondongos inoculados no cérebro (dose: 0.02 cc.) morrem nos seguintes prazos: 4 em 4 dias, 3 em 6 e 7 em 7 dias, apresentando sintomas nervosos na véspera da morte. Esses sintomas consistem especialmente em contraturas periódicas e movimentos circulares.

À necrópsia observam-se, em alguns animais, alem de congestão do encéfalo, pequeninos focos de necrose no fígado, e hipertrofia deste orgão e do baço. Toxoplasmas abundantes nos esfregaços do cérebro e, em pequeno número, no fígado e baço.

Inoculação em pintos — Cinco pintos de raça Leghorn branca, de 8 dias de idade, foram inoculados intracerebralmente (dose 0.02 cc.). Morrem entre 6 a 8 dias após a inoculação, apresentando, 2 a 3 dias antes da morte, incoordenação de movimentos, contratura das asas e torção do pescoço. Estes fenômenos manifestam-se periodicamente; nos intervalos, os animais permanecem tristes, de cabeça baixa, apoiada no chão. A necrópsia revela pontos hemorrágicos no encéfalo, no fígado e no baço, e numerosos pontos de necrose, pequenos, no fígado.

Encontram-se em grande número os toxoplasmas no encéfalo, mas são raros no fígado e baço.

Transmite-se facilmente a infecção a novos pintos, a partir de qualquer dos orgãos acima referidos.

De cinco pintos inoculados no peritônio (dose 0.3 cc.), 4 morrem em 6 dias e 1 em 8 dias. Todos apresentam exsudato peritoneal, pouco abundante mas rico de toxoplasmas, e manchas de necrose, pequenas e numerosas, no fígado e no baço, que se encontram hipertrofiados e de côr castanha escura. Toxoplasmas abundantes nestes orgãos.

## EXPERIÊNCIA DE NEUTRALIZAÇÃO COM SORO IMUNE DE GALINHA

SABIN e OLITSKY verificam o aparecimento de anticorpos neutralizantes no soro de macaco convalescente de infecção toxoplásmica. SABIN (6) verifica ainda que o soro de macaco imunizado com o toxoplasma de origem animal (cobaia) neutraliza igualmente os toxoplasmas de origem humana e animal, o que demonstra, ao lado das provas de imunidade cruzada, a identidade de ambos.

A experiência de neutralização se faz em coelhos (5, 6, 7) e consiste em injetar intracutaneamente uma mistura de soro e suspensão de orgãos infetados. Com o cérebro de camondongo, rico em toxoplasmas, faz-se uma suspensão a 1:10 em solução de Tyrode e deixa-se repousar ½ h. à temperatura do laboratório. O soro imune e o soro normal de controle são misturados em partes iguais, com diluições diversas do sobrenadante, e permanecem 10 minutos à temperatura am-

biente, ao fim dos quais 0.2 cc. de cada mistura são injetados intracutaneamente na pele depilada de coelho. Uma leitura feita 10 dias depois revela, nos pontos inoculados com a mistura de soro normal e toxoplasma, a existência de nódulos grandes de necrose, que não se observam ou são relativamente menores nos pontos de inoculação da mistura de soro imune e toxoplasma.

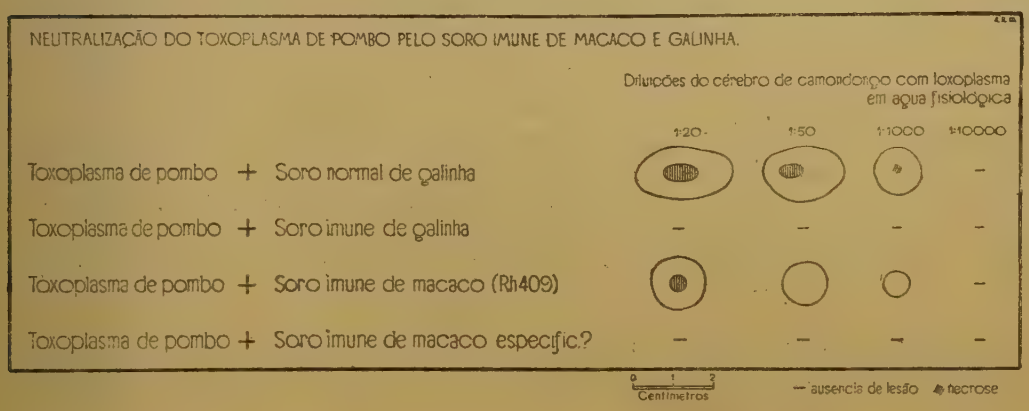
Com o toxoplasma de pombo conseguimos preparar em galinha um soro com propriedades neutralizantes, empregando como antígeno uma suspensão em água fisiológica de fígado de pombo infetado com toxoplasma. Foram feitas 5 inoculações na veia, com intervalo de 8 a 14 dias, sendo a galinha sangrada 10 dias após a ultima inoculação.

Nas experiências de neutralização, feitas em coelho, de acordo com a técnica já referida, empregamos os seguintes soros: 1) soro normal de galinha; 2) soro imune de galinha; 3) soro imune de macaco (Rh 409); 4) soro imune de macaco (espec?).

Os soros 3 e 4, que nos foram gentilmente cedidos pelo Dr. A. B. SABIN, a quem agradecemos, neutralizam os toxoplasmas de origem humana e animal (cobaia). Segundo SABIN (comunicação pessoal a um de nós (J. R.) o soro 3 (Rh 409) é específico, mas atualmente só revela poder neutralizante contra doses mínimas do toxoplasma; o soro 4 há muitos anos demonstra elevado poder protetor contra toxoplasma, ao contrario das outras amostras de soro antitoxoplasma, que ao fim do mesmo prazo já haviam perdido o poder protetor, motivo pelo qual o proprio SABIN põe em dúvida a sua especificidade.

O quadro abaixo resume as experiências feitas em coelhos, cujas lesões na pele foram lidas 10 dias após a inoculação da mistura soro-toxoplasma:

Fig. 1



Da leitura deste quadro (Fig. 1) se conclue que o toxoplasma de pombo é neutralizado pelo soro imune preparado em galinha, e por soro preparado em macaco, dotados ambos de poder neutralizante em relação aos toxoplasmas de origem humana e animal (cobaia).

## IDENTITY OF AVIAN AND MAMMALIAN TOXOPLASMA

*Abstract*

*Despite the fact that avian and mammalian toxoplasma have often been admitted in the litterature as identical the experimental evidence of such belief seems never to have been produced.*

*In this paper the authors show that the pigeon toxoplasma behaves in the same way as the mammalian one regarding its range of infectiousness for different hosts.*

*Pigeons, guinea-pigs, mice and chicks have beem readily infected and the symptoms and lesions caused by the infection are described in the paper.*

*Immune sera prepared in monkeys against mammalian toxoplasma also display a marked neutralizing action against pigeon toxoplasma. The technique of the neutralization test was that described by* SABIN *and* OLITSKY.

*A highly neutralizing serum against pigeon toxoplasma has been obtained in fowls by intravenous inoculation of suspensions of liver of infected pigeon. The fowls received five inoculations, with an interval of 8-14 days between them.*

*The authors are indebted to Dr.* A. B. SABIN *for his kind cooperation.*

## BIBLIOGRAFIA

1 — CARINI, A. — 1909 — Reproduction experimentale de la toxoplasmose du lapin. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 2, 465-469 e 525-525.

2 — CARINI, A. — 1911 — Infection spontanée du pigeon et du chien due au "Toxoplasma cuniculi". *Bull. Soc. Path. Exot.*, 8, 517-519.

3 — REIS, J. e NOBREGA, P. c/ a col. de REIS, A. S. — 1936 — *Doenças de Aves*, Ed. Inst. Biológico, São Paulo, 302-306.

4 — ROSENBUSCH, F. — 1931 — Toxoplasmosis avium en los canarios. *7 Reunion Soc. Arg. Path. Reg. del Norte*, 11, 904-906.

5 — SABIN, A. B. e OLITSKY, P. K. — 1937 — Toxoplasm and obligate intracellular parasitism. *Science*, 85, 336-338.

6 — SABIN, A. B. — 1939 — Biological and immunological identity of toxoplasm of animal and human origin. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 41, 75-80.

7 — Sabin, A. B. — 1941 — Toxoplasm encephalitis in children. *Jour. Am. Med. Ass.*, 116, 801-807.

8 — Splendore, A. — 1908 — Um nuovo protozoa parasita dei conigli. *Rev. Soc. Scient.*, São Paulo, 3, 109.

9 — Splendore, A. — 1909 — Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 2, 462.

10 — Wolfson, F. — 1940 — Organisms described as avian Toxoplasm. *Am. Jour. Hyg.*, 32, (3) Secção C, 88-99.

———o———

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 3

Figs. *A* e *B* — Pinto inoculado no cérebro com toxoplasma. Notar o estado de sonolência, paralisia da asa e bico apoiado no solo. (Foto B. Mazza).

### Estampa 4

Fig. *C* — Pinto inoculado no cérebro com toxoplasma. Notar a paralisia da asa e bico apoiado no solo (Foto B. Mazza).

Fig. *D* — Fígado de coelho inoculado na veia com toxoplasma. Notar a delicada rede de fibrina que envolve o orgão e pequeninos pontos de necrose (Foto A. Federmann).

### Estampa 5

Fig. *E* — Fígado de coelho inoculado na veia com toxoplasma. Notar o aumento de volume e a presença de numerosos pontos pequeninos de necrose semelhantes aos que se observam na tuberculose miliar (Foto A. Federmann).

Fig. *F* — Pulmão de coelho inoculado subcutaneamente com toxoplasma. Lesões nodulares semelhantes às anteriores, apenas um pouco maiores (Cópia por J. Campos dum des. de L. Althausen).

### Estampa 6

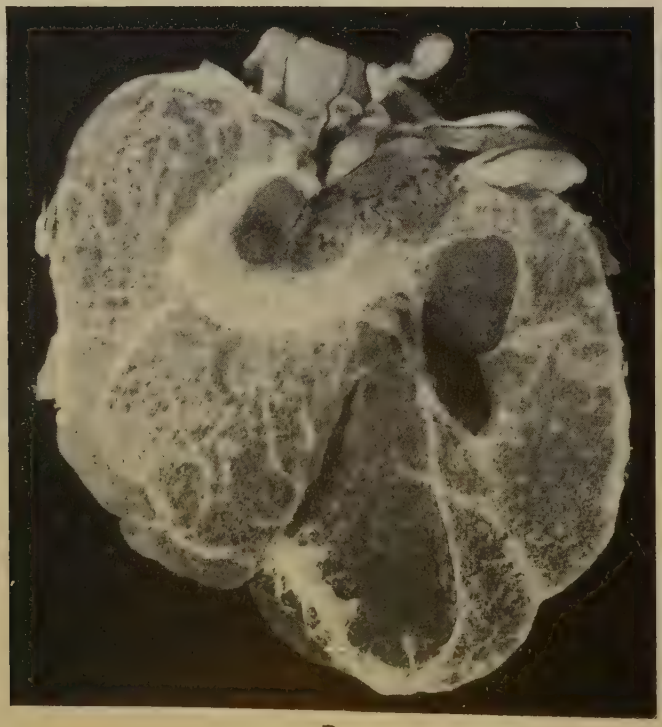
Fig. *G* — Baços de coelhos inoculados com toxoplasma. Notar o grande aumento de volume do orgão e a presença de numerosos nódulos miliares de necrose (Foto A. Federmann).

Fig. *H* — Esfregaço de cérebro de pinto inoculado com toxoplasma. Notar as numerosas formas típicas de toxoplasma. (Cópia por J. Campos dum desenho de L. Althausen).

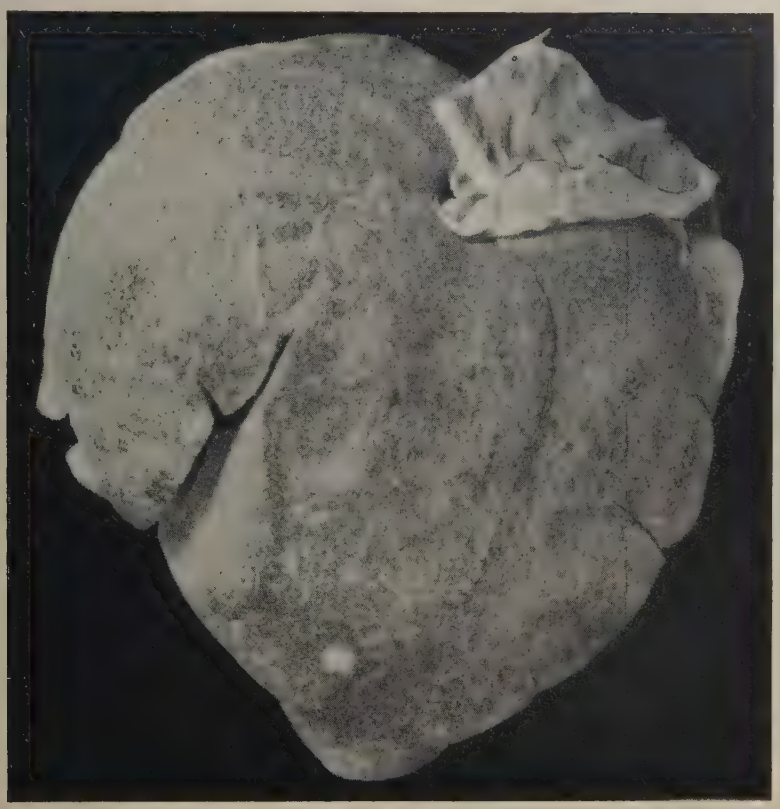
*A*

*B*

*C*



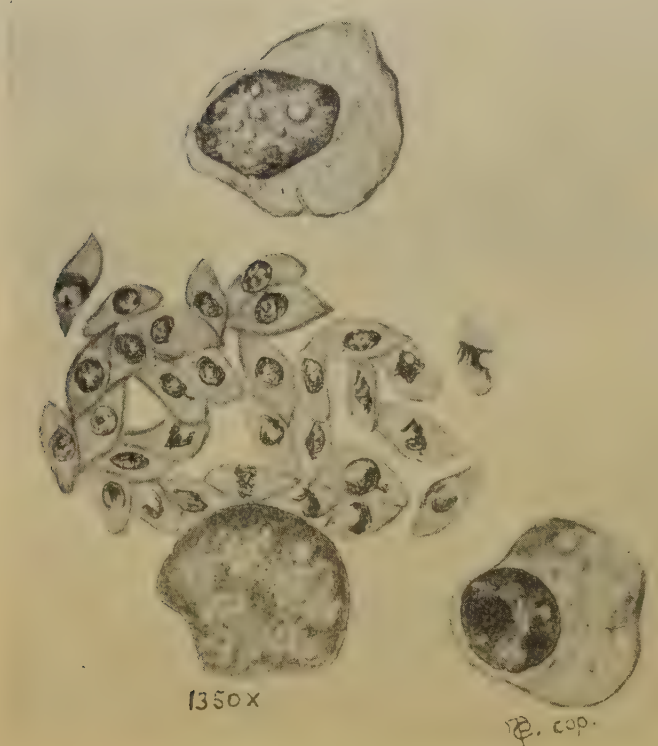
*D*



*E*

*F*

*G*




*H*

Vol. 13 — Art. 6 Outubro de 1942

# "HORCIUS NOBILELLUS (BERG)" (HEM. MIR.) PRAGA DOS ALGODOAIS DO ESTADO DE S. PAULO

POR

H. F. G. Sauer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 9 figuras no texto e estampas 7-11

INDICE

Introdução . . . . . 29
Nomes comuns e científico . . . 30
Histórico . . . . . 31
Considerações sobre a importância econômica . . . . . 32
Distribuição geográfica . . . . 34
Plantas hospedeiras . . . . . 35
Proporção de sexos . . . . . 37
Descrição do adulto . . . . . 37
Longevidade dos adultos em condições anormais . . . . . 39
Hábitos da espécie e natureza dos prejuizos . . . . . 40
Ciclo da vida . . . . . 44
Cópula e fertilidade . . . . . 44
Preoviposição . . . . . 44
Oviposição . . . . . 46
Ovo . . . . . 49
Duração do período ninfal . . . 51
Desenvolvimento ninfal . . . . 54
Inimigos naturais . . . . . 57
Influência das épocas de plantio e dos solos na intensidade da infestação . . . . . 58
Combate . . . . . 59
Abstract . . . . . 63
Bibliografia . . . . . 64

## INTRODUÇÃO

Somente de poucos anos a esta data o percevejo rajado do algodoeiro, *Horcius nobilellus* (BERG), ficou sendo conhecido como uma das pragas mais nocivas à cultura algodoeira, ombreando com a broca do algodoeiro, *Gasterocercodes brasiliensis* (HAMBL.), a lagarta rosada, *Platyedra gossypiella* (SAUNDERS) e o curuquerê, *Alabama argillacea* (HÜBN.). E si essa situação persistir, si o ataque continuar com a mesma intensidade, não temos dúvida de que será a peior praga dessa cultura. Antes que isso se concretize é indispensavel que os interessados se compenetrem da importância do problema e lhe dispensem a conveniente atenção imediata.

A cultura algodoeira oferece as melhores condições para as pragas em geral. Em virtude de ser uma exploração recente em muitas zonas do Estado, muitos insetos, ainda incipientes, serão capazes de se tornar nocivos.

Do mesmo modo que o algodão, a generalidade das culturas, em São Paulo, está sujeita à livre atuação de insetos cujo valor ainda não foi bem compreendido, e por isso a totalidade das medidas profiláticas e de combate aconselhadas são, com raras exceções, muito negligenciadas. Não será necessário mencionar os exemplos que todos poderemos apon-

tar. E os danos ocasionados pelas pragas, ainda pouco estimados, só podem ser comparados aos determinados pela erosão. Tendo esta uma ação nociva, anualmente acumulada, aquela tem efeitos mais imediatos, porem igualmente progressivos, que afetam muitas vezes imperceptivelmente, mas de modo constante, a economia privada e a pública.

Em virtude da falta de conhecimentos detalhados sobre a biologia do *H. nobilellus*, e dada a sua atual importância, julgámos conveniente fazer o estudo dessa praga, visando poder formular com maior segurança as medidas para o seu combate, bem como facilitar estudos ulteriores para o seu controle, desde que os trabalhos preliminares sobre ela, conquanto de utilidade inconteste, não são suficientes. Os resultados apresentados nesta publicação baseiam-se em observações efetuadas esparsamente durante os últimos quatro anos, quer nas condições naturais, principalmente, quer no laboratório. Os dados sobre a biologia foram colhidos no primeiro quadrimestre de 1942.

## NOMES COMUNS E CIENTÍFICO

Sendo muito recentes as observações sobre o inseto sob nossa consideração como praga do algodão, é razoavel que nos meios rurais pouco seja conhecido a seu respeito, dado que a maioria dos cotonicultores ainda não tenha travado conhecimento com essa espécie que se vem impondo como da maior importância econômica. Pouquíssimos lavradores são capazes de reconhece-la, e menor ainda é o número dos que lhe emprestam qualquer responsabilidade na redução das colheitas.

Em vista disso não há denominações vulgarizadas. As que existem têm um carater local, e por isso os nomes comuns são muito variados.

Nas publicações existentes no Brasil sobre a espécie (2 e 3) o simples nome "percevejo" é citado frequentemente como denominação comum. Nas localidades onde ela é mais abundante e já lhe é atribuida relativa importância, os nomes "percevejo do algodoeiro", "rajado", simplesmente, "percevejo rajado do algodoeiro" ou ainda "baratinha", são usados como denominações comuns.

Dada a frequência dos insetos da ordem *Hemiptera* nas culturas, não parece que as designações "percevejo" ou "percevejo do algodoeiro" sejam convenientes. Há tambem certas espécies de *Blatidae* que são nocivas ao algodão, conquanto seus danos sejam absolutamente secundários. Por isso "baratinha" incorrerá no mesmo caso que os nomes precedentes, notadamente si de futuro, tais insetos se tornarem prejudiciais à cultura. Desde, porem, que essa praga já tem uma denominação vulgar, satisfatória do ponto de vista entomológico,

julgamos conveniente aceitar a designação "percevejo rajado do algodoeiro" para nomear comumente o inseto em questão. No decurso do presente trabalho este será o nome comum empregado.

H. H. KNIGHT, do Iowa State College, Ames, Iowa, Est. Unidos da America, a quem foram submetidos exemplares para a conveniente determinação por HAMBLETON, em 1938, identificou-os como *Horcius nobilellus, Hemiptera, Miridae,* descrito por BERG (1) em 1883, de especimens colhidos na República Argentina.

## HISTÓRICO

A história do percevejo rajado do algodoeiro, *H. nobilellus,* no território brasileiro, segundo indagações procedidas, é recente. Efetivamente data de 1936, quando foram colhidos por HAMBLETON (2) os primeiros especimens sobre algodoeiros em Campinas, no Est. de S. Paulo. Até esse ano, ao que parece, nenhuma outra constatação fôra feita. Pouco mais tarde L. O. T. MENDES (2) coletou-o tambem em algodoais de Campinas e Marília, tendo divulgado em 1938 (4) breve nota na qual admite a sua frequência e abundância em algumas zonas algodoeiras do Estado. Até essa ocasião tal espécie não fôra reputada nociva aos algodoais. Somente em 1938 foi considerada de importância econômica, em face dos primeiros prejuizos constatados no município de Ribeirão Preto, com perspectivas de se tornar uma das pragas mais prejudiciais à cultura algodoeira.

Das informações colhidas e observações encetadas desde esse ano até presentemente, parece que a praga já vinha ha mais tempo danificando as culturas. Pelos dados obtidos, dificilmente será determinado desde quando se verificou a sua nocividade, pois somente nestes últimos quatro anos maior atenção se voltou para o inseto. Nos meios rurais, por ser pouco conhecido, muitos interessados ainda atribuem a outros fatores as enormes reduções das suas colheitas. Os levantamentos procedidos e informações obtidas evidenciaram o estabelecimento da praga na quasi generalidade das zonas algodoeiras do Estado de S. Paulo (fig. 1), bem como os seus prejuizos. E as declarações de lavradores afirmando datarem pelo menos de oito anos os danos atualmente verificados, em maior ou menor extensão, fazem supôr que tal praga já exista, determinando sensiveis perdas, alguns anos antes da sua constatação como praga importante em 1938. Anteriormente a 1930 a cultura algodoeira em S. Paulo ocupava no rol das plantas cultivadas um lugar de secundária importância. Só depois tornou-se uma exploração em larga escala, cujo crescimento ainda se constata. Dado que somente nesses últimos dez anos o vulto dessa cultura se acentuou, é provavel que seguindo o princípio geral, a praga se tenha

incrementado devido às condições favoraveis criadas com o desenvolvimento das plantações. E' igualmente provavel, em vista disso, que a espécie se tenha transferido de outros hospedeiros. Baseados nessas hipóteses, consideramos não ser errôneo admitir a existência do *H. nobilellus* como praga efetivamente importante, a contar dessa última década, pois si há oito anos seus prejuizos já foram evidenciados por lavradores, é provavel que pelo menos há alguns anos antes ele se tenha estabelecido.

## CONSIDERAÇÕES SOBRE A IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Praticamente, desde que a cultura algodoeira se estabeleceu definitivamente em S. Paulo como uma das culturas básicas de sua economia, há pouco mais de uma década, as consultas e queixas dos lavradores, motivadas pelo excesso da queda *(shedding)* dos botões floríferos e maçãs pequenas e médias (Estampa 7, fig. *A*), observadas nos algodoais, são constantes. Algodoeiros visivelmente sadios, em franca e pujante vegetação, capazes, portanto, de suportar grande parte da carga em produção, em épocas mais ou menos constantes, entre meados de Janeiro até meados de Março, notadamente nos dois últimos meses, deixam cair tal quantidade de sua carga, que a produção prevista sofre reduções de 25 a 70%. Conquanto seja conhecido que o algodoeiro apresenta o que é denominado *shedding* natural, a atual queda das partes produtivas ultrapassa os limites razoaveis e de forma alguma deve ser considerada como um fenômeno normal. Culturas há em que somente umas poucas maçãs, já de tamanho superior ao médio, conseguem permanecer na planta; tudo o mais desaparece, e durante todo o restante período vegetativo não se verificam senão escassos botões, flores ou maçãs, nas porções terminais da planta. E essa situação, preliminarmente constatada nuns poucos municípios ao redor de Ribeirão Preto, posteriormente, após melhores investigações, pôde ser verificada em muitos outros locais do Estado, nuns mais do que noutros, de tal forma que pode ser considerada generalizada por todas as suas regiões algodoeiras.

Para esclarecer essa ocorrência diversas explicações foram oferecidas, muitas das quais se encontram na nossa literatura. Dentre as que tiveram maior aceitação são apontados os efeitos causados pela intensidade ou escassez das chuvas, mudanças bruscas dos períodos chuvosos em secas prolongadas, ou vice-versa, e mais recentemente a influência perniciosa do excesso de manganês em certos solos, principalmente naqueles onde a praga foi primeiramente notificada. E' sabido que são diversas as causas determinantes do *shedding* e provavelmente todas concorrem, com maior ou menor intensidade, em detri-

mento das colheitas. No entanto atualmente, si outras causas vêm determinando prejuizos, nenhuma é mais evidente do que a ação das pragas, em provocar a queda das partes produtivas dos algodoeiros. Inicialmente pouco conhecida a ação dos *Hemiptera*, hoje em dia cabelhes, a maior responsabilidade nessa questão, juntamente com a lagarta rosada, ação indireta da broca do algodoeiro, diversas espécies de cigarrinhas, pulgões e *trips*.

Em 1938, em artigo publicado no "O Biologico" (5), o autor manifestou dúvidas sobre si às diversas causas apontadas como determinantes desses prejuizos deveriam caber as maiores responsabilidades, quando estudos em andamento evidenciavam a importância das pragas. Nessa ocasião parecia-lhe que estas deveriam ser melhor consideradas pelos diversos interessados. Desde essa época tal assunto mereceu acurada atenção e grande parte dos prejuizos atribuidos a outras causas já são tidos por danos proporcionados por insetos que, em vista de condições climáticas e mesológicas mais ou menos favoraveis, tornaram-se de maior ou menor importância econômica.

Presentemente, nada menos de seis espécies de *Miridae* são frequentes nos algodoais. Dessas, porem, o *Horcius nobilellus* é a mais abundante e a que vem ocasionando, por isso, maior soma de prejuizos. Alem dessas espécies, muitas cigarrinhas são encontradas, e seus prejuizos, evidentes, conquanto normalmente os agricultores não lhes atribuam nenhum efeito nocivo.

Torna-se dificil estabelecer no momento a importância do prejuizo causado pelo percevejo rajado do algodoeiro. Os seus danos são apreciaveis somente quando atingem as maçãs ou botões por ele derrubados. No entanto, botões muito pequenos e mesmo brotos são sacrificados pela praga, (Estampa 7, fig. *B*) tornando assim muito maiores as perdas.

Para estimar as perdas procurámos obter de lavradores cujas lavouras neste ano foram visivelmente sacrificadas, informações relativas às safras anteriores. E isso, feito em diversas regiões do Estado, forneceu-nos os primeiros elementos para aquilatar, praticamente, a extensão das perdas. Dessa maneira, em lavouras de zonas muito prejudicadas, a perda calculada variou entre 40 e 65% da safra média desses últimos quatro anos; em regiões pouco assoladas, entre 15 e 30%; e finalmente, nas de infestação média, os danos tiveram como limites 25 a 40%. A média geral, computada dessa maneira para o Estado, dá 48% de prejuizos. Essa informação, muito falha, serve porem para evidenciar o de que é capaz a praga, que ombrea com as peiores, conhecidas nas nossas condições. E' fato que a extensão desses danos não é generalizada. Dada a diversidade das épocas de

plantio numa mesma zona, a praga não tem um carater local, e os seus efeitos, em maior ou menor escala, podem ser por toda parte observados. HAMBLETON (2), em estudos e contagens realizadas para uma cultura em Ribeirão Preto, calculou as perdas num mínimo de 40%. Conquanto já bem difundida, em muitas lavouras a praga ainda não se apresenta muito nociva. Há certas zonas onde a sua evidência é maior, e noutras os prejuizos vultosos somente se verificam esparsamente.

Admitindo-se, por cálculo, um prejuizo mínimo de 20%, a perda para S. Paulo, causada por esse tipo de praga, importa em cerca de cincoenta mil contos de réis, tomando por base o preço de 1$000 por quilo de algodão em caroço.

Para ter-se melhor idéia dos danos por ela provocados, depois de feitas contagens em algodoais para determinar, no período de maior frequência do inseto, o número médio de indivíduos por planta, cobriram-se algodoeiros previamente escolhidos e nos quais foram eliminados todos os insetos existentes, com gaiolas suficientemente grandes para abrigar a planta. Neles se colocaram tantos percevejos rajados do algodoeiro, em formas adultas e jovens, quantos representavam a população natural média por planta (15 indivíduos). Para testemunha tomaram-se plantas sujeitas às mesmas condições, com a única diferença de não estarem sujeitas à ação do *Horcius nobilellus* (Estampa 8, fig. *C*).

Semanalmente foram feitos exames. Os resultados evidenciaram claramente os efeitos do inseto. Enquanto as plantas testemunhas vegetavam normalmente, emitindo sempre novos botões e formando novas maçãs, havendo somente uma perda de 12% de botões ou maçãzinhas durante o período cultural, nos demais a perda foi de 99,4%, incluindo todas as formas, desde os botões pequeninos. Somente escaparam as maçãs já formadas quando a praga fôra colocada. A produção do lote atacado foi 95% menor do que o testemunha.

## DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Em 1938, HAMBLETON (2), nas informações preliminares publicadas sobre o *Horcius nobilellus*, constata a sua existência sobre os algodoais dos municípios de Campinas e Ribeirão Preto, mencionando ter L. O. T. MENDES colhido em 1937 ninfas e adultos no município de Marília. Admitiu em suas considerações que a praga estivesse estabelecida nas regiões compreendidas entre Ribeirão Preto e Campinas e entre esta e Marília, concordando com as indicações de MENDES (4). Inspeções posteriores, realizadas na safra de 1941-42, evidenciaram a sua presença em diversos outros municípios, concretizando a suposição

preliminar de HAMBLETON. Muitas consultas procedentes de cotonicultores, sobre essa praga, durante a cultura de 1941-42, extenderam a zona afetada pelo percevejo rajado do algodoeiro, facilitando sobremodo o trabalho de levantamento. A figura 1 mostra os municípios

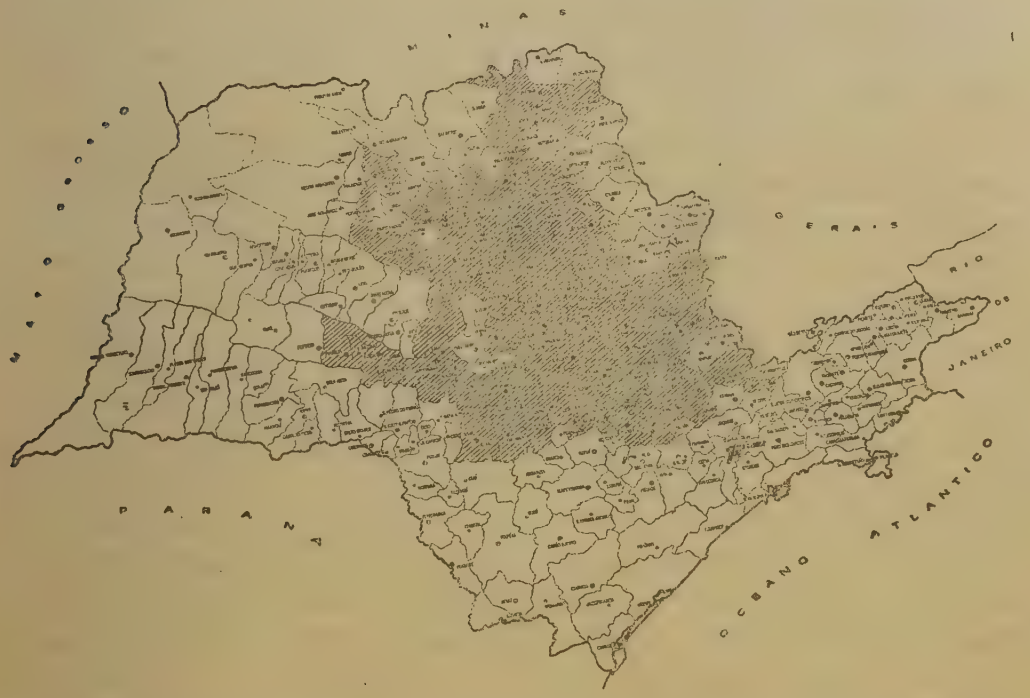



Fig. 1 — Ocorrência do *Horcius nobilellus* (BERG) no Est. de S. Paulo, segundo o levantamento preliminar procedido em 1941-1942.

do Estado de S. Paulo onde o inseto foi encontrado. Embora ainda faltem dados quanto a muitos municípios, a distribuição do *Horcius nobilellus* pode ser considerada generalizada por todas as zonas algodoeiras. Consultas provenientes de Minas Gerais incluem o sul deste Estado na zona assolada pela praga. Alem dos Estados citados, não se tem conhecimento da sua existência noutras regiões do Brasil, nem o autor, em suas viagens aos Estados do norte e nordeste do país, teve ocasião de anotar a sua frequência. Dado que a espécie foi descrita por BERG de indivíduos colhidos na República Argentina, a espécie provavelmente abrange toda a região desde Minas até aquele país.

## PLANTAS HOSPEDEIRAS

Em inspeções realizadas nas lavouras de algodão em diferentes zonas do Estado de S. Paulo durante o primeiro trimestre de 1942, meses em que o percevejo rajado do algodoeiro é encontrado em grande

abundância nas culturas, dificilmente foi ele encontrado em outro hospedeiro que não fossem as diferentes variedades de algodão. Todas essas variedades são suscetiveis de ser atacadas pelo *Horcius nobilellus*, não havendo praticamente nenhuma preferência. Naturalmente, como as variedades herbaceas "Texas" e "Express" são as quasi unicamente cultivadas em grande escala, nessas os prejuizos são mais evidentes. A variedade "Delfos", tão promissora dada a sua alta produtividade, sofre igualmente pronunciados efeitos da praga.

Num campo experimental da Secção de Entomologia Agrícola, em Campinas, a praga foi igualmente verificada desenvolvendo-se em algodão arboreo Mocó, cujas sementes se originaram de algodoais nordestinos.

E' indiscutivel que o inseto encontra nas diversas variedades de algodão a planta excelente para a sua alimentação e procreação.

Nas condições naturais, nas proximidades das culturas algodoeiras, diversos especimens adultos foram encontrados sobre plantas silvestres. Até o momento, porem, não se poderá garantir que todas sejam espécies hospedeiras, sendo mais provavel que tais indivíduos aí se encontrassem ocasionalmente. Entretanto, em plantas da familia *Malvaceae*, conquanto mais raramente, o percevejo rajado do algodoeiro pôde ser encontrado, tanto nas formas adultas como imaturas. *Sida cordifolia* L., *S. rhombifolia* L., *Malvastrum coromandelianum* GARKE e *Hibiscus esculentus* L., assim como *Triunfetta semitriloba*, da familia *Tiliaceae*, hospedavam a praga. Tambem em *Amaranthus spinosus* L., da familia *Amaranthaceae*, foi encontrada uma ninfa do *Horcius nobilellus* que, colhida e transportada para o laboratório, pôde concluir o seu ciclo nesse hospedeiro. No laboratório, si bem que tentado novamente, esse caso jamais se repetiu. Os adultos, porem, alimentaram-se desse hospedeiro e a postura pôde ser constatada diversas vezes.

HAMBLETON (2), menciona o encontro de ninfas e adultos sobre *Sida cordifolia* L., assim como adultos em *Bidens pilosa* L. e em uma leguminosa.

As espécies vegetais da familia *Malvaceae* são muito disseminadas em S. Paulo e provavelmente constituem os principais hospedeiros subsidiários.

Resumindo, a seguinte lista inclue os hospedeiros sobre os quais o percevejo rajado do algodoeiro tem sido colhido, sendo assinalados aqueles sobre os quais foram obtidas tambem as formas imaturas.

| Nome científico | Nome comum |
|---|---|
| *Gossypium* spp. * | Algodoeiro |
| *Sida cordifolia* L, * | Guaxuma branca |
| *Sida rhombifolia* L. * | Guaxuma |
| *Malvastrum coromandelianum* GARKE * | Vassourão |
| *Hibiscus esculentus* L. * | Quiabeiro |
| *Triunfetta semitriloba* * | Carrapicho de carneiro |
| *Amaranthus spinosus* L. * | Carurú |
| *Bidens pilosa* L. | Picão |
| —— | Leguminosa |

## PROPORÇÃO DE SEXOS

Houve uma sensivel diferença de proporção entre os sexos nos adultos colhidos nos algodoais e nos criados no laboratório. Quer em 1939, quer em 1942, quando tais dados foram computados, idênticos resultados foram obtidos. Assim foi que naquele ano, enquanto para os indivíduos apanhados na natureza a proporção de sexos foi de 62,96% de fêmeas e 37,04% de machos, os criados em condições de laboratório deram 45,72% de fêmeas e 54,28% de machos. O mesmo fato se repetiu em 1942. Dos 92 indivíduos criados, 39,14% eram fêmeas e 60,86% machos; dos 112 adultos conseguidos no algodoal, 61,61% eram fêmeas e 38,39% machos. De um modo geral, para os indivíduos do campo a proporção de sexos assim se resumiu: 62,28% de fêmeas e 37,71% de machos. Dão esses dados uma magnífica informação a respeito das grandes populações do *Horcius nobilellus* encontrados nas culturas, explicando satisfatoriamente a razão dos elevados prejuizos. Entretanto a mesma semelhança não se encontra na proporção dos sexos para os indivíduos criados em condições anormais, onde se obtiveram 57,57% de machos e 42,43% de fêmeas, praticamente o inverso dos dados do campo.

Não nos parece provavel que tais diferenças sejam motivadas pela diversidade do meio onde se processou o desenvolvimento, e dificil se torna explicar a causa de tal desigualdade. Mas talvez se encontre a explicação no fato de serem os machos menos frequentes na cultura, ou no de que a longevidade das fêmeas, cerca do dobro da dos machos, (para indivíduos férteis), proporcione àquelas uma possibilidade de adensar mais a sua população.

## DESCRIÇÃO DO ADULTO

O adulto do *H. nobilellus* (fig. 2) é assim descrito por HAMBLETON (2):

"Os percevejos vivos são de colorido brilhante, de 4,5 a 5,0 mms. de comprimento e cerca de 2,0 mms. de largura. A frente da cabeça, torax e porção interna do corium marginando o clavo, ocraceo ou amarelo sujo. O restante dos

elitros, excéto a membrana e raia marginal, em grande parte fusco-sanguineo, com numero variavel de manchas amarelas ou esbranquiçadas; membrana em grande parte fusca. O escutelo varia de palido a amarelo brilhante, com a linha mediana bastante alargada anteriormente e de côr fusco-sanguinea; as margens formam um "V" caracteristico. As antenas são fuscas, tendendo a preto, cada segmento com um anel basal estreito de côr testacea; o segundo segmento tem um anel testaceo antes do meio. Os olhos são proeminentes e de côr vermelho-escura. Patas amareladas, irregularmente salpicadas de vermelho; porção apical do femur e basal da tibia posterior, e anel alem do meio, avermelhados; os tarsos, quasi pretos. Superficie ventral amarelo-palida ou ocracea, muitas vezes irregularmente salpicada de vermelho".

Largura da cabeça: 1,140 mm. Largura entre os olhos: 0,36 mm. Comprimento dos segmentos da antena: 1.º: 0,660 mm.; 2.º: 1,680 mm.; 3.º: 0,740 mm.; 4.º: 0,940 mm.

*Horcius nobilellus* (Berg): Fig. 2 — Adulto ♂, × 17,6 (J. Santos del.). Fig. 3 — Ovo, × 47. Fig. 4 — Ovipositor, × 44 (Autor del.).

As fêmeas são mais robustas que os machos, e de abdomen geralmente mais volumoso. Estes são aparentemente mais ageis e podem andar sobre superfícies lisas como a do vidro. As fêmeas prontamente se distinguem pelo ovipositor, inicialmente, após a transformação em adulto, claro, tornando-se com o correr dos dias pardo ou castanho; nos machos existem na mesma região duas faixas vermelhas que, nas fêmeas, não são tão evidentes e circundam a porção anterior do aparelho ovipositor.

LONGEVIDADE DOS ADULTOS EM CONDIÇÕES ANORMAIS

Tratando da longevidade, HAMBLETON (2), em 1938, sucintamente menciona que os adultos obtidos de ninfas de campo viveram de 18 a 20 dias, no decurso de Abril. Neste mês a temperatura média verificada foi de 21°,5 C.

Em 1939 fizeram-se outras observações de Janeiro a Abril.

TABELA 1

Longevidade dos machos e fêmeas virgens do percevejo rajado do algodoeiro, *H. nobilellus* — Campinas — 1939

| Machos | | | | Fêmeas | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Data da transformação em adulto | Data da morte | Dias de vida | Temperatura média em °C. | Data da transformação em adulto | Data da morte | Dias de vida | Temperatura média em °C. |
| 24-1 | 14-2 | 21 | 23,2 | 27-1 | 20-2 | 24 | 23,7 |
| 24-1 | 6-3 | 41 | 24,2 | 27-1 | 6-3 | 38 | 24,4 |
| 26-1 | 14-3 | 47 | 24,2 | 28-1 | 6-3 | 37 | 24,4 |
| 28-1 | 6-3 | 37 | 24,4 | 1-2 | 28-2 | 27 | 24,6 |
| 30-1 | 17-2 | 18 | 24,0 | 15-2 | 13-4 | 57 | 25,2 |
| 30-1 | 17-2 | 18 | 24,0 | 17-2 | 27-2 | 10 | 25,2 |
| 30-1 | 19-2 | 20 | 24,0 | 23-2 | 13-4 | 49 | 24,8 |
| 31-1 | 7-3 | 35 | 25,0 | 24-2 | 13-3 | 17 | 25,5 |
| 1-2 | 7-2 | 6 | 25,5 | 26-2 | 9-3 | 11 | 25,5 |
| 1-2 | 12-2 | 11 | 24,0 | 26-2 | 11-3 | 13 | 25,3 |
| 1-2 | 21-3 | 48 | 25,0 | 22-3 | 17-4 | 26 | 25,4 |
| 17-2 | 4-3 | 15 | 25,2 | | | | |
| 17-2 | 27-2 | 10 | 25,2 | | | | |
| 19-2 | 3-3 | 12 | 25,2 | | | | |
| 24-2 | 11-3 | 15 | 25,5 | | | | |
| 25-2 | 9-3 | 12 | 25,5 | | | | |
| 26-2 | 3-4 | 36 | 25,5 | | | | |
| Média . . | — | 23,6 | 24,6 | — | — | 28,0 | 24,9 |

Como nesse ano o problema não estava merecendo maior atenção, a longevidade foi determinada somente para adultos virgens, provindos de ninfas colhidas nas culturas. Tais indivíduos, mantidos isoladamente em tubos de vidro de 2 cms. de diâmetro e 10 cms. de comprimento, supridos diariamente com botões, tiveram uma longevidade variavel. A duração da vida dos machos variou de 6 a 48 dias, com a média de 23,6 dias à temperatura média de 24°,6 C.; a das fêmeas ficou compreendida entre 10 e 57 dias, com a média de 28,0, a

24°,9 C., em média. A basear-se pelas médias, as fêmeas viveram cerca de 4,4 dias mais, conforme se depreende pelos dados expressos na tabela 1.

A longevidade dos indivíduos acasalados, utilizados nos estudos de 1942, está exposta na tabela 2. Por ela se verifica que os adultos em geral tiveram a vida mais reduzida. Os machos viveram entre 12

TABELA 2

Longevidade dos adultos de *H. nobilellus*, machos e fêmeas, acasalados
Campinas — 1942

| Machos | | | | Fêmeas | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Data da transformação em adulto | Data da morte | Dias de vida | Temperatura média em °C. | Data da transformação em adulto | Data da morte | Dias de vida | Temperatura média em °C. |
| 2-2 | 20-2 | 18 | 25,3 | 4-2 | 10-3 | 34 | 25,3 |
| 8-2 | 3-3 | 23 | 25,7 | 8-2 | 21-3 | 41 | 25,2 |
| 8-2 | 1-3 | 21 | 25,7 | 6-2 | 8-3 | 30 | 25,5 |
| 18-2 | 14-3 | 24 | 25,0 | 13-2 | 30-3 | 45 | 25,3 |
| 20-2 | 6-3 | 14 | 25,6 | 20-2 | 18-3 | 26 | 25,1 |
| 20-2 | 7-3 | 15 | 25,5 | 20-2 | 24-3 | 32 | 25,1 |
| 22-2 | 2-3 | 8 | 26,3 | 16-2 | 25-3 | 37 | 25,3 |
| 28-2 | 16-3 | 16 | 24,4 | 16-2 | 30-3 | 42 | 25,3 |
| 9-3 | 26-3 | 17 | 25,1 | 9-3 | 27-3 | 18 | 25,1 |
| 13-3 | 25-3 | 12 | 25,4 | 15-3 | 27-3 | 12 | 25,7 |
| 17-3 | 30-3 | 13 | 25,5 | 17-3 | 31-3 | 14 | 25,6 |
| Média . . | — | 16,4 | 25,4 | — | — | 30,0 | 25,3 |

e 24 dias, com a média de 16,4 dias, a 25°,4 C.; as fêmeas tiveram a duração da vida compreendida entre 12 e 45 dias, vivendo em média 30,0 dias a 25°,3 C., ou cerca de 13,6 dias mais do que os machos. Tais dados foram obtidos durante os meses de Fevereiro e Março.

## HÁBITOS DA ESPÉCIE E NATUREZA DOS PREJUIZOS

Após o nascimento, a pequena ninfa, muito rápida em seus movimentos, procura as partes mais tenras da planta, procedendo à alimentação. Dirigem-se ou para os brotos terminais, ou para as extremidades dos ramos, ou para os botões floríferos ou flôres, ou, finalmente, para as maçãs pequenas ou médias, e mais raramente para as maiores. Têm preferência mais pronunciada pelos botões ou brotos terminais. Aí se situam, porem têm a tendência de sempre procurar

novos locais. As ninfas, em todas as fases, são muito ativas e seus hábitos, semelhantes. Geralmente procuram esconder-se entre as proteções oferecidas pela planta, como sejam as bracteas ou folíolos. Aparentemente são calmas, andando vagarosamente, mas infalivelmente defecam, tornando-se de uma extrema agilidade, quando incomodadas, procurando ocultar-se, já sobre o lado oposto da planta, já saltando em procura de proteção mais segura. Perfurando com o rostrum os tecidos tenros da planta, conseguem alimentar-se sugando a seiva. Geralmente um indivíduo alimenta-se num lugar por certo tempo, mudando depois para outro, onde continúa a alimentar-se. Essa operação pode repetir-se várias vezes num minuto, e é notavel o tempo que se gasta na interminavel sucção. Nos botões, a manifestação de terem sido visitados consiste, ou nas anormalidades que apresentam, principalmente na última fase de crescimento, ou nas dejeções amareladas que sobre eles se encontram. Sendo muito sugados, tais botões não produzem flores normais (Est. 8, fig. *D*). Abrem-se irregularmente, atrofiados, e as anteras escurecidas mostram os efeitos da praga. As maçãs menores apresentam manchas pardo-escuras ou pretas, deprimidas, brilhantes, semelhantes à pústulas, mais ou menos arredondadas, mas de formas variáveis e em número variavel. Essas pústulas, de 2 a 3 mms. de diâmetro, aumentam com o crescimento da maçã. Muitas vezes, no centro da mancha, uma gotícula pode ser verificada e origina-se da seiva que sái pela perfuração feita pelo rostrum do inseto. Os botões pequeninos, ou mesmo os folíolos, encontrados nos brotos terminais (Est. 7, fig. *B*), secam e destacam-se, ficando, porem, presos à planta pela aderência que os pêlos dessa região faculta. Enquanto as bracteas das formas maiores estão unidas intimamente aos botões, os insetos se alimentam externamente. Há, porem, um período em que tais bracteas não estão intimamente unidas ao botão, mas as extremidades estão como que coladas; em tais tipos, a alimentação não se processa bem e só mais tarde, quando as bracteas dão passagem à praga, tais botões voltam a ser atacados, já agora oferecendo excelentes condições pela faculdade de abrigarem o inseto perfeitamente. Dessa época em diante o ataque se processa facilmente, dado que não há maiores obstáculos, quer quanto aos botões, quer quanto às outras formas de desenvolvimento posteriores.

Os adultos são encontrados nos mesmos locais e têm os mesmos hábitos que as formas jovens. Razoavelmente, quando incomodados, procuram, pelo vôo, encontrar maior proteção. O vôo é geralmente curto. Vôam para plantas próximas e logo se ocultam, ou em baixo das folhas, ou no lado oposto do caule do algodoeiro. No entanto são

bons voadores e sua disseminação é facilitada e facilmente ampliada por esse recurso, que constitue provavelmente o meio mais usual da sua propagação. São muito ativos e com certa frequência podem ser atraídos pela luz, mas não em grande número. No decurso de trabalhos realizados em 1938 em Ribeirão Preto, um indivíduo foi visto, durante o dia, sugando uma espécie de *Empoasca*, provavelmente *fabae*, muito frequente nas culturas.

Tanto adultos como ninfas podem ser encontrados em promiscuidade. Até cerca de 10 indivíduos têm sido encontrados sobre uma única forma frutífera. Geralmente a população existente nessas partes é de 1 a 3 indivíduos. A população, por planta, é variavel, conforme a estação e a densidade da infestação. De um modo geral, porem, nos casos de infestação média, a população por planta é de 12,53 indivíduos, sendo de pouco mais do dobro quando a intensidade é grande.

Os *squares*, folíolos, botões pequenos ou médios, bem como as maçãs, até cerca de metade do seu tamanho normal, desprendem-se e cáim certo tempo após serem picados pelo inseto (Est. 7, fig. *B*). Há botões que conseguem florecer; aparentemente não houve prejuizo; no entanto, mais tarde, a pequena maçã cai, sem razão plausivel, si não se soubesse que o dano foi devido à falta de fecundação, determinada pelos percevejos. As manifestações continuam até certo prazo, mesmo depois da planta estar livre da praga. Não nos parece que a transmissão de virus seja a causa desses prejuizos. Antes estamos propensos a crer que haja uma irritação provocada pela saliva do inseto. E' dificil supôr que um pequeno inseto possa causar tão grande dano somente devido à ação mecânica de um pequeno aparelho de sucção sobre os tecidos da planta, quando existem outros maiores, igualmente sugadores, e de hábitos semelhantes, que não causam danos idênticos. No entanto a eliminação constante das partes frutíferas motivou vegetação semelhante à das plantas atacadas pelo *Horcius*.

Várias espécies de outros insetos são os responsáveis pelo excessivo *shedding* ou queda dos botões ou maçãs, no algodoeiro. E a-pesar-da opinião frequente, de que tal perda provem da má distribuição das chuvas, das adubações insuficientes, tipos de solos inadequados, tratos culturais impróprios, etc., admitindo que tais fatores determinem menor produção, estamos convictos de que aos insetos cabe grande responsabilidade pelos prejuizos verificados. Muitas espécies acarretam essas perdas, evidenciando-se atualmente o percevejo rajado do algodoeiro, *H. nobilellus*, e pelo menos mais seis outras espécies de *Miridae*, sem considerar os *Homoptera*, cuja ação, mais pronunciada

nos pequenos botões e nos brotos terminais, impede que os danos sejam facilmente aquilatados, alem de outras pragas.

O algodoeiro atacado vai perdendo a carga. Cessa a existência de botões e flores, e os produzidos novamente são constantemente atacados. Em vista disso o algodoeiro inicia uma vegetação fluente, densa, e observa-se a tendência de um crescimento ereto e anormal, pela supressão dos ramos frutíferos (Est. 9, fig. *E*). As maçãs que se formam situam-se principalmente na parte baixa da planta, produzidas quando ainda não havia a praga, ou o seu ataque era pouco pronunciado (Est. 9, fig *F*). As raras que escapam, e situadas nas partes mais altas, são muitas vezes defeituosas numa ou mais lojas, devido à ação do inseto. E' frequente notar-se, em plantas que foram atacadas, uma produção na parte baixa, seguida de um intervalo e somente nas extremidades novamente outras maçãs, formadas depois do inseto ter diminuido, correspondendo assim ao aparecimento, duração e diminuição ou desaparecimento da praga.

Até agora todas as variedades de algodão cultivadas no Estado estão sujeitas aos mesmos prejuizos (Est. 9, fig. *G*).

Em Ribeirão Preto, em 1938, foram colocadas plantas sob gaiolas de tela. Umas, como testemunha, livres da praga; outras com uma infestação do percevejo rajado do algodoeiro. Enquanto nas testemunhas houve um *shedding* de 10%, nas plantas sujeitas à praga a queda foi de 74%. Entretanto, sem ter o devido cuidado, a testemunha apresentava-se com alguns exemplares de outros insetos que poderiam ter causado aquela perda, os quais, possivelmente por estarem ainda na forma de ovo, não puderam ser eliminados por ocasião da limpeza das plantas.

Em 1942, repetindo-se idêntica experiência em Campinas, fazendo-se a infestação artificial semelhante à média da população natural, obteve-se na primeira semana uma queda de 97,2% mais do que nos algodoeiros livres do *H. nobilellus*. Nos primeiros 15 dias a queda conservou-se semelhante ao primeiro resultado, com a perda de 98,2%. 21 dias após, tal resultado foi de 99,4%, (Est. 10. fig. *I*).

Enquanto o testemunha perdeu apenas 12% do total de botões ou maçãs produzidos, o infestado perdeu praticamente toda a sua carga. Tais resultados vêm confirmar as observações de HAMBLETON (2), feitas em fins de Março de 1938. Nessa ocasião os danos do *Horcius* já estão em declínio. Mas mesmo assim, nos algodoeiros plantados em meados de Novembro, cujas contagens nessa época revelaram uma média de 19,1 maçãs por planta, 23 dias depois essa média caiu para

11,1 maçãs por pé, ou uma perda de cerca de 44%. Si observações pudessem ter sido feitas a partir de meados de Fevereiro, estamos certos de que maiores teriam sido os prejuizos notificados.

## CICLO DA VIDA

As observações e estudos sobre o percevejo rajado do algodoeiro, *H. nobilellus*, datam de 1938, com interrupções. Na safra 1941-42 maior tempo lhes foi dispensado, para concluir os dados esparsos quanto à biologia. Na tabela 3 sumaría-se o ciclo da vida de 56 indivíduos, desde 26 de Janeiro a 13 de Março. O período máximo exigido para concluir o ciclo evolutivo foi de 34 dias, sendo o mínimo de 24 dias; em média foram precisos 27,16 dias. Conquanto não seja muito evidente a ação da temperatura, que durante tal determinação não sofreu alterações pronunciadas, ela se manifesta acelerando, quando elevada, o período de desenvolvimento. Para machos ou fêmeas o ciclo se efetuou em prazos semelhantes.

O primeiro indivíduo visto num algodoal foi uma fêmea, em 12 de Novembro de 1941, numa cultura plantada em meados de Setembro.

Tomando-se em consideração o ciclo da vida e o período de preoviposição, teoricamente calcularam-se de 6 a 7 gerações possiveis durante uma estação. Dado o entrecruzamento das gerações, elas não são tipicamente distintas.

## CÓPULA E FERTILIDADE

Depois da transformação em adulto é necessário um certo período para ser atingida a maturidade sexual, durante o qual os indivíduos, mesmo reunidos em condições favoraveis, mostram-se indiferentes aos do sexo oposto. Durante 3 a 6 dias permaneceram alimentando-se. A cópula não foi verificada durante o dia, e mesmo à noite não foi facil presenciá-la com frequência. Nunca se pôde determinar a sua duração, pois os indivíduos já estavam em cópula quando isso foi observado. Numa única vez os indivíduos permaneceram unidos cerca de 3 horas, das 18,45 às 21,50 horas. Nos três demais casos presenciados, em pouco tempo se separaram. Durante o áto os indivíduos permaneceram unidos em direções opostas, podendo caminhar livremente, si perturbados; normalmente ficam quietos. Uma cópula bem sucedida foi bastante para produzir a fertilidade durante toda a vida da fêmea.

## PREOVIPOSIÇÃO

Dada a dificuldade dos casais serem apanhados em cópula, para desse modo ser determinado o período de preoviposição compreendido entre ela e o primeiro ovo, resolveu-se considerar para esse período,

TABELA 3

Resumo do ciclo da vida do *Horcius nobilellus* — Campinas 1942

| Data da Postura | Data da Eclosão | Data da 1.ª muda | Data da 2.ª muda | Data da 3.ª muda | Data da 4.ª muda | Data da 5.ª muda | Ovo a adulto (dias) | Temperatura média em °C. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 26-1 | 5-2 | 8-2 | 11-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 26 | 25,3 |
| 24-1 | 5-2 | 9-2 | 12-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 28 | 25,5 |
| 26-1 | 5-2 | 9-2 | 12-2 | 14-2 | 16-2 | 21-2 | 27 | 25,4 |
| 26-1 | 5-2 | 8-2 | 10-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 26 | 25,3 |
| 23-1 | 5-2 | 9-2 | 12-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 29 | 25,5 |
| 24-1 | 7-2 | 10-2 | 12-2 | 15-2 | 17-2 | 20-2 | 28 | 25,5 |
| 27-1 | 6-2 | 10-2 | 12-2 | 15-2 | 17-2 | 20-2 | 25 | 25,3 |
| 28-1 | 7-2 | 10-2 | 13-2 | 15-2 | 17-2 | 20-2 | 24 | 25,2 |
| 27-1 | 7-2 | 10-2 | 13-2 | 15-2 | 17-2 | 20-2 | 25 | 25,3 |
| 23-1 | 6-2 | 10-2 | 13-2 | 15-2 | 17-2 | 20-2 | 29 | 25,5 |
| 25-1 | 7-2 | 11-2 | 14-2 | 16-2 | 19-2 | 23-2 | 30 | 25,4 |
| 26-1 | 6-2 | 11-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 24-2 | 30 | 25,4 |
| 27-1 | 7-2 | 11-2 | 14-2 | 16-2 | 20-2 | 23-2 | 28 | 25,3 |
| 24-1 | 7-2 | 10-2 | 13-2 | 16-2 | 21-2 | 25-2 | 33 | 25,6 |
| 29-1 | 8-2 | 11-2 | 14-2 | 17-2 | 20-2 | 23-2 | 26 | 25-1 |
| 31-1 | 10-2 | 14-2 | 17-2 | 19-2 | 22-2 | 25-2 | 26 | 25,2 |
| 2-2 | 11-2 | 14-2 | 17-2 | 19-2 | 22-2 | 25-2 | 24 | 25,4 |
| 30-1 | 12-2 | 15-2 | 17-2 | 19-2 | 22-2 | 25-2 | 27 | 25,1 |
| 31-1 | 12-2 | 16-2 | 19-2 | 21-2 | 23-2 | 26-2 | 27 | 25,3 |
| 31-1 | 12-2 | 17-2 | 19-2 | 21-2 | 23-2 | 26-2 | 27 | 25,3 |
| 3-2 | 14-2 | 18-2 | 20-2 | 22-2 | 24-2 | 27-2 | 25 | 25,6 |
| 2-2 | 14-2 | 17-2 | 20-2 | 23-2 | 25-2 | 28-2 | 27 | 25,6 |
| 15-2 | 25-2 | 1-3 | 3-3 | 5-3 | 7-3 | 11-3 | 25 | 25,3 |
| 13-2 | 23-2 | 26-2 | 1-3 | 4-3 | 7-3 | 12-3 | 28 | 25,2 |
| 15-2 | 25-2 | 28-2 | 3-3 | 6-3 | 8-3 | 12-3 | 26 | 25,2 |
| 14-2 | 25-2 | 1-3 | 4-3 | 6-3 | 8-3 | 13-3 | 28 | 25,2 |
| 18-2 | 28-2 | 4-3 | 6-3 | 8-3 | 11-3 | 15-3 | 26 | 25,0 |
| 18-2 | 1-3 | 5-3 | 7-3 | 10-3 | 12-3 | 14-3 | 25 | 25,0 |
| 19-2 | 1-3 | 5-3 | 7-3 | 10-3 | 12-3 | 16-3 | 26 | 25,1 |
| 19-2 | 1-3 | 5-3 | 8-3 | 11-3 | 14-3 | 17-3 | 27 | 25,1 |
| 19-2 | 1-3 | 5-3 | 8-3 | 11-3 | 14-3 | 17-3 | 27 | 25,1 |
| 19-2 | 1-3 | 5-3 | 8-3 | 12-3 | 14-3 | 17-3 | 27 | 25,1 |
| 24-2 | 7-3 | 11-3 | 14-3 | 17-3 | 20-3 | 22-3 | 27 | 25,0 |
| 23-2 | 8-3 | 11-3 | 13-3 | 15-3 | 18-3 | 23-3 | 29 | 25,1 |
| 23-2 | 8-3 | 12-3 | 15-3 | 17-3 | 20-3 | 24-3 | 30 | 25,1 |
| 23-2 | 8-3 | 12-3 | 15-3 | 17-3 | 20-3 | 24-3 | 30 | 25,1 |
| 24-2 | 10-3 | 14-3 | 17-3 | 20-3 | 22-3 | 25-3 | 30 | 25,2 |
| 1-3 | 12-3 | 15-3 | 18-3 | 21-3 | 23-3 | 26-3 | 26 | 24,9 |
| 1-3 | 12-3 | 15-3 | 18-3 | 21-3 | 23-3 | 26-3 | 26 | 24,9 |
| 6-3 | 15-3 | 18-3 | 21-3 | 23-3 | 26-3 | 29-3 | 24 | 25,0 |
| 3-3 | 16-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 2-4 | 31 | 24,8 |
| 3-3 | 16-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 2-4 | 31 | 24,8 |
| 5-3 | 16-3 | 20-3 | 23-3 | 25-3 | 27-3 | 30-3 | 26 | 25,1 |
| 6-3 | 17-3 | 20-3 | 23-3 | 25-3 | 27-3 | 1-4 | 27 | 25,0 |
| 6-3 | 17-3 | 22-3 | 25-3 | 27-3 | 29-3 | 2-4 | 28 | 24,9 |
| 27-2 | 18-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 1-4 | 34 | 25,0 |
| 7-3 | 18-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 1-4 | 26 | 25,0 |
| 8-3 | 18-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 28-3 | 1-4 | 25 | 25,1 |
| 7-3 | 18-3 | 21-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 1-4 | 26 | 25,0 |
| 7-3 | 18-3 | 22-3 | 24-3 | 27-3 | 30-3 | 2-4 | 27 | 24,9 |
| 7-3 | 19-3 | 22-3 | 25-3 | 27-3 | 29-3 | 2-4 | 27 | 24,9 |
| 8-3 | 19-3 | 23-3 | 25-3 | 28-3 | 30-3 | 3-4 | 27 | 24,8 |
| 8-3 | 19-3 | 22-3 | 24-3 | 26-3 | 29-3 | 1-4 | 25 | 25,1 |
| 9-3 | 20-3 | 23-3 | 25-3 | 27-3 | 29-3 | 2-4 | 25 | 25,0 |
| 13-3 | 23-3 | 26-3 | 28-3 | 31-3 | 3-4 | 7-4 | 26 | 24,9 |
| 13-3 | 23-3 | 26-3 | 28-3 | 31-3 | 2-4 | 7-4 | 26 | 24,9 |

para efeito deste capítulo, o lapso decorrido entre a emergência da fêmea e o início da postura. Em vista do prazo necessário à maturidade sexual de 3 a 6 dias, verdadeiramente o prazo da preoviposição seria reduzido desse período. Mas efetivamente não foi possivel determinar seguramente o tempo necessário à maturidade sexual. Por

isso, admitindo como período preovipositor o decurso entre o nascimento e primeiro ovo, tem-se uma determinação mais segura, em face dos dados conseguidos.

Em geral esse período variou de 6 a 10 dias. Num único caso prolongou-se até 16 dias. Em média tal período foi de 8,6 dias. Na tabela 5, juntamente com outras informações relativas às fêmeas acasaladas, encontram-se os dados referentes ao período preovipositor. Conquanto aquí só estejam computados os indivíduos que tiveram uma vida aparentemente normal, mais de 22 casos podem ser acrescidos, tendo sido assim determinado o período de preoviposição para 32 fêmeas, cujos extremos e média se enquadraram nos números expressos na mencionada tabela.

## OVIPOSIÇÃO

Consoante os hábitos do percevejo rajado do algodoeiro, só raramente a postura foi verificada durante a segunda parte do dia. Normalmente processa-se do escurecer ao amanhecer, entre cerca de 18 horas e 5 horas. Para a oviposição a fêmea tem manifesta preferência pelas extremidades dos ramos ou partes verdes, constituidas por tecidos muito tenros. Nos pedúnculos dos botões, encontram-se frequentemente os ovos, principalmente antes de endurecidos. Mais raramente são encontrados nos pedúnculos das novas folhas e muito dificilmente nas porções mais endurecidas da planta.

O local da postura, conquanto sejam preferivelmente escolhidas as partes terminais, varia enormemente: está intimamente relacionada com a dureza dos tecidos da planta verde. No laboratório os casais colocados em grandes mangas de vidro, com ambas as aberturas cobertas com pano fino, eram supridos com brotos terminais, si possivel, dotados de um pequeno botão florífero. Para facilitar o exame dos ovos, o ponteiro era previamente preparado, sendo eliminados todos os brotos, exceto o extremo, e folhas da haste. Eram igualmente retirados os pelos. Essa operação facilitou sobremodo o encontro dos ovos. (Est. 10, fig. *H*).

Antes de ser verificado que dessa maneira a postura era mais estimulada e mais faceis os exames, notou-se que as fêmeas localizavam os ovos quasi sempre nas regiões onde, pelo corte, se expunha a porção interna do caule, no qual os tecidos são aquosos e muito delicados. Os ovos são inseridos dentro do tecido por meio de um forte ovipositor dentado na extremidade apical. Após escolher o local, a fêmea situa-se paralelamente ao maior eixo da superficie sobre a qual pousa, fica imovel, com as pernas firmemente apoiadas, e com impulsos repetidos gradativamente enfia o ovipositor (fig. 4), deixando aí o ovo

TABELA 4

Resumo da atividade ovipositora das fêmeas fecundadas do *H. nobilellus*

Campinas — 1942

| Dias do mês | Temp. med. diária °C. | Número do indivíduo | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Fevereiro | | | | | | | | | | | |
| 5 | 25,5 | 0 | | | | | | | | | |
| 6 | 26,5 | 0 | | | | | | | | | |
| 7 | 26,9 | 0 | | | | | | | | | |
| 8 | 26,7 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 9 | 25,3 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 10 | 24,2 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 11 | 23,9 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 12 | 24,3 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 13 | 25,1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 14 | 25,5 | 5 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 15 | 25,3 | 10 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 16 | 26,7 | 4 | 0 | 10 | | | | | | | |
| 17 | 26,9 | 13 | 0 | 6 | | | | | | | |
| 18 | 26,8 | 9 | 16 | 5 | | | | | | | |
| 19 | 24,5 | 6 | 6 | 5 | 0 | | | | | | |
| 20 | 24,8 | 3 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 21 | 25,8 | 4 | 8 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 22 | 25,9 | 2 | 10 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 23 | 25,6 | 3 | 6 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 24 | 26,3 | 2 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 25 | 26,5 | 6 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 26 | 27,4 | 7 | 9 | 2 | 0 | 0 | 14 | 0 | | | |
| 27 | 27,3 | 5 | 8 | 2 | 0 | 0 | 9 | 10 | | | |
| 28 | 25,8 | 4 | 6 | 3 | 0 | 0 | 5 | 5 | | | |
| Março | | | | | | | | | | | |
| 1 | 25,8 | 2 | 3 | 4 | 0 | 0 | 8 | 4 | | | |
| 2 | 25,8 | 3 | 1 | 2 | 0 | 9 | 4 | 3 | | | |
| 3 | 24,6 | 2 | 3 | 2 | 0 | 4 | 1 | 6 | | | |
| 4 | 23,3 | 4 | 2 | 3 | 0 | 4 | 0 | 8 | | | |
| 5 | 24,2 | 2 | 1 | 4 | 0 | 1 | 8 | 4 | | | |
| 6 | 24,7 | 3 | 5 | 2 | 0 | 12 | 1 | 2 | | | |
| 7 | 24,1 | 2 | 6 | 2 | 5 | 5 | 0 | 5 | | | |
| 8 | 23,4 | 2 | 1 | — | 1 | 3 | 3 | 3 | | | |
| 9 | 23,8 | — | 3 | — | 2 | 6 | 5 | 2 | | | |
| 10 | 24,5 | — | 3 | — | 7 | 4 | 1 | 1 | | | |
| 11 | 23,6 | — | 4 | — | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 | | |
| 12 | 23,3 | — | 1 | — | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | | |
| 13 | 24,1 | — | 1 | — | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | | |
| 14 | 24,8 | — | 2 | — | 0 | 3 | 1 | 4 | 0 | | |
| 15 | 25,4 | — | 1 | — | 0 | 5 | 4 | 2 | 0 | 0 | |
| 16 | 28,1 | — | 1 | — | 1 | 4 | 7 | 3 | 0 | 0 | |
| 17 | 26,2 | — | 3 | — | 0 | 1 | 5 | 1 | 6 | 0 | 0 |
| 18 | 22,4 | — | 1 | — | 3 | 4 | — | 2 | 3 | 0 | 0 |
| 19 | 25,3 | — | 2 | — | 3 | 3 | — | 1 | 6 | 0 | 0 |
| 20 | 25,7 | — | — | — | 3 | 1 | — | 1 | 7 | 0 | 0 |
| 21 | 25,8 | — | — | — | 5 | 0 | — | 2 | 5 | 4 | 0 |
| 22 | 25,4 | — | — | — | 2 | 4 | — | 1 | 4 | 3 | 0 |
| 23 | 26,1 | — | — | — | 8 | 5 | — | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 24 | 26,1 | — | — | — | 4 | 2 | — | — | 3 | 3 | 0 |
| 25 | 26,4 | — | — | — | 6 | 1 | — | — | 9 | 3 | 4 |
| 26 | 26,5 | — | — | — | 3 | 0 | — | — | 5 | 2 | 3 |
| 27 | 24,7 | — | — | — | 4 | 6 | — | — | 1 | — | 4 |
| 28 | 25,2 | — | — | — | 5 | 3 | — | — | — | — | 2 |
| 29 | 26,3 | — | — | — | 3 | 1 | — | — | — | — | 3 |
| 30 | 26,6 | — | — | — | 6 | — | — | — | — | — | 1 |
| 31 | 24,7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Total de ovos | | 103 | 130 | 73 | 72 | 93 | 76 | 85 | 50 | 15 | 17 |

(fig. 3), que fica com a região opercular ao nivel da casca, ligeiramente um pouco acima ou, quando é muito tenro o tecido, levemente enterrado nele.

Conquanto seja variavel a posição do ovo na planta, geralmente são depositados perpendicular ou pouco obliquamente ao eixo principal do broto ou porção usada para a deposição do ovo. Si obliquos, inclinam-se sempre para a extremidade superior. A inserção do ovo atinge normalmente a região lenhosa, raramente ficando na região do câmbio, de modo que fica firmemente aderido à planta, mesmo quando a casca é retirada. O ovo é comumente posto isoladamente. Não raro, porem, são postos em grupos de dois e três (Est. 11, figs. *J* e *K*).

TABELA 5

Duração dos períodos de preoviposição, oviposição e número de ovos obtidos no laboratório, *H. nobilellus* — Campinas — 1942

| Número do indivíduo | Data do acasalamento das fêmeas | Período de preoviposição (dias) | Período de oviposição (dias) | Número total de ovos | Número médio de ovos por dia | Número máximo de ovos por dia | Temperatura média °C. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5-2 | 9 | 23 | 103 | 4,47 | 13 | 25,4 |
| 2 | 8-2 | 10 | 30 | 130 | 4,33 | 16 | 25,2 |
| 3 | 8-2 | 8 | 20 | 73 | 3,65 | 10 | 25,4 |
| 4 | 19-2 | 16 | 24 | 72 | 3,00 | 8 | 25,3 |
| 5 | 20-2 | 10 | 28 | 93 | 3,32 | 12 | 25,2 |
| 6 | 20-2 | 6 | 20 | 76 | 3,80 | 14 | 25,2 |
| 7 | 20-2 | 7 | 25 | 85 | 3,40 | 10 | 25,1 |
| 8 | 11-3 | 6 | 11 | 50 | 4,57 | 9 | 25,2 |
| 9 | 15-3 | 6 | 6 | 15 | 2,50 | 4 | 25,7 |
| 10 | 17-3 | 8 | 6 | 17 | 2,83 | 4 | 25,6 |
| Média | | 8,6 | 19,3 | 71,4 | 3,58 | 10,0 | 25,3 |

A oviposição no algodoeiro em condições naturais inicia-se em fins de Outubro, provavelmente de fêmeas oriundas dos ovos que transpuzeram o inverno, e continúa, dadas as favoraveis condições oferecidas, dessa época em diante. Entretanto o extremo mais elevado da postura se verifica, como em Ribeirão Preto, em Fevereiro-Março, ocasião em que os prejuizos se evidenciam sobremodo. Antes dessa época o número de indivíduos vai gradualmente crescendo até formar uma população capaz de motivar as grandes perdas. Conquanto ainda não se saiba si os outros hospedeiros possam auxiliar grandemente o aumento da população no campo, não parece que eles sejam capazes de o favorecer em escala proeminente, si bem que sobre esse assunto faltem maiores informações, que poderão ser objeto de estudos subsequentes.

No laboratório o período de oviposição em Fevereiro e Março variou de 6 a 30 dias, com a média geral de 19,3 dias, à temperatura média de 25°,3 C. Sem dúvida, em condições naturais, dada a longevidade que podem ter, essa média será mais dilatada. O mesmo poderia acontecer ao número de ovos. A média de 71,4 ovos foi obtida em condições anormais, com o máximo de 130 e mínimo de 15 ovos por fêmea. As fêmeas depositam em média 3,58 ovos diários durante os meses em questão, porem casos houve, e não raros, em que depuzeram até cerca de 4 vezes mais. Na tabela 5 são referidos tais recordes para os 10 casais que aparentemente tiveram uma vida regular e onde se incluem todos os dados conseguidos desde a preoviposição.

Na tabela 4, é feito o recorde da postura diária dessas fêmeas, observadas desde o dia da emergência em adulto, e durante toda a vida.

## OVO

(Fig. 3; Est. 11, figs. *J* e *K*)

Descrição: — Pequeno, levemente recurvado, pouco comprimido lateralmente, alongado, afilando gradualmente para a região caudal, que é arredondada; muito ligeiramente dilatado na porção mediana posterior; colarinho constrito, levemente curvo, extremidade anterior truncada, provida de dois processos curvos em arco, às vezes branco sujo, às vezes pardo escuro; opérculo côncavo, com a projeção da margem contorno elíptica, si visto dorsalmente, de côr clara, as vezes quasi preta. Quando recente, é de côr branca, brilhante; antes da eclosão, amarelado, notando-se através o corion a côr escarlate dos olhos e manchas ou faixas abdominais; colarinho e região opercular amarelada ou pardo-amarelada. Corion lustroso, liso e pouco resistente. Tamanho levemente variavel. Comprimento máximo 1,040 mm.; mínimo: 0,960 mm.; largura máxima (tomada na região mediana e maior plano): 0,280 mm.; mínima: 0,220 mm. Em média tem as seguintes dimensões, para 73 ovos medidos em ocasiões diversas: comprimento 1,008 mm.; largura 0,253 mm.

Período de incubação: — Os brotos terminais mais tenros, possuindo pequenos botões florais, depois de permanecerem por 24 horas com as fêmeas fecundadas, eram, após o exame e contagem dos ovos, conservados em tubos de vidro pequenos, com a extremidade mergulhada nágua limpa. Diariamente essa água era substituida, aparando-se nessa ocasião uma pequena porção do caule. Esses cuidados preveniram durante certo tempo o seu rápido apodrecimento ou séca. Desse modo manteve-se durante um período mais ou menos longo os ovos, insertos nos caules, em condições mais favoraveis. Quando os brotos em questão manifestamente começavam a não suportar mais tal condição, eram cortados em pedaços e as porções com os ovos guardadas em pequenas caixas de petri sobre mata-borrão umidecido. Si bem que não seja facil manter os caules desde a pos-

tura até a eclosão em ótimas condições, dado o desenvolvimento de bactérias e fungos, as observações foram suficientemente facilitadas pelos resultados assim conseguidos. Para verificações isoladas os ovos foram retirados e conservados em câmaras úmidas. No entanto essa operação requer extremo cuidado e sempre acarreta perdas, dada a dificuldade de se retirarem os ovos dos tecidos da planta, sem ofendê-los.

Nessa espécie a duração do ovo é bastante desigual. Conquanto as temperaturas exerçam decidida influência sobre a incubação, tal ação não é suficientemente pronunciada para ser rapidamente notada. Sendo muito variaveis os períodos máximos e mínimos, assim como os que tendem para o período médio de incubação, eles não fazem ressaltar à primeira vista o efeito das temperaturas. Estas aceleram a incubação do ovo si mais elevada, ou a retardam, si menos. Casos há em que ovos postos num mesmo dia só eclodem após longo período de incubação, enquanto seus semelhantes não ultrapassaram o prazo médio. Certos ovos, de um mesmo grupo, sujeitos à condições idênticas, mostram necessitar de maior período para eclodir. Quanto mais baixa é a temperatura, maior é o período de incubação. Sem se terem determinado períodos exatos, os ovos nessas condições são capazes de atravessar o inverno para eclodir quando melhores condições aparecerem após a estação fria do ano. O tempo requerido para a incubação dos ovos observados variou, durante os meses de Janeiro a Abril, segundo a positiva ação da temperatura, de 9 a 20 dias. À temperatura média de 25°,9 C. o período de incubação foi, em média, de 9,88 dias, tendo sido, em média, de 13,35 dias à temperatura média de 24°,3 C. De uma maneira geral, à 25°C. os ovos necessitaram de pouco menos de 12 dias para eclodir.

Na tabela 6, para melhor ser verificado o efeito das temperaturas, os ovos foram grupados em lotes, correspondentes às temperaturas a que estiveram submetidos e dentro da qual incubaram. E' possivel, assim, verificar o seu efeito quanto às superiores a 25°,3 C. e inferiores a 24°,7 C. Entre esses dois limites não se positivou o efeito da temperatura quanto ao período de incubação.

E c l o s ã o : — De acordo com a evolução embrionária, e dada a transparência do corion, o ovo toma tonalidades que vão do branco ao amarelado. Pouco antes da eclosão pode-se distinguir, ao microscópio, a futura ninfa dentro do ovo, sendo mais evidentes a coloração escarlate dos olhos, situados nas proximidades da região opercular, por onde se dá a emergência depois de completo o desenvolvimento do embrião, e a côr semelhante das manchas e faixas abdominais. Rom-

TABELA 6

Período de incubação dos ovos de *Horcius nobilellus* — Campinas — 1942

| Número de ovos | Duração em dias | | | | Número média °C. |
|---|---|---|---|---|---|
| | Total (lote) | Média | Máxima | Mínima | |
| 9 | 89 | 9,88 | 11 | 9 | 25,9 |
| 10 | 108 | 10,80 | 12 | 9 | 25,7 |
| 21 | 231 | 11,00 | 14 | 10 | 25,5 |
| 13 | 152 | 11,69 | 16 | 10 | 25,3 |
| 12 | 138 | 11,50 | 14 | 9 | 25,1 |
| 10 | 114 | 11,40 | 13 | 10 | 24,9 |
| 26 | 302 | 11,61 | 15 | 10 | 24,7 |
| 15 | 184 | 12,26 | 15 | 11 | 24,5 |
| 14 | 187 | 13,35 | 20 | 10 | 24,3 |
| 130 | 1505 | 11,49 | — | — | 25,0 |

pido o opérculo pela ninfa, gradualmente presencia-se o aparecimento da cabeça através da abertura; com movimentos para a frente e para traz, libertam-se os apêndices, originalmente comprimidos sobre a superficie ventral do corpo. Auxiliado gradativamente por eles, completa-se o nascimento, ficando a casca transparente incrustada no tecido da planta. Essa operação tem a duração variavel de 50 a 190 minutos. Emergida do ovo, a ninfa recemnascida faz uma toaléte e pouco tempo depois entra em atividade.

## DURAÇÃO DO PERÍODO NINFAL

Como "ninfa" designa-se a fase evolutiva compreendida entre o ovo e o adulto, assim como denominamos "instar" o intervalo entre cada duas mudas do estádio ninfal. Os insetos recemnascidos foram encerrados em tubo de vidro de cerca de 2 cms. de diâmetro por 10 de comprimento, cujas extremidades foram fechadas com tampões de algodão. Diariamente eram supridos com novos botões floríferos, de tamanho médio, colhidos pouco antes. Os exames procedidos regularmente cada 24 horas permitiram a obtensão dos dados constantes da tabela 7. Tal como dela se depreende, há uma grande variação na duração dos instares, oriunda da diferença de condição do próprio alimento fornecido, bem como da influência da temperatura. Por não ter havido, no decurso das observações, flutuação sensivel da temperatura, esta não acusou influência aparentemente apreciavel; mas estudando-se essa influência mediante arranjo conveniente dos dados da tabela 7, verifica-se que a temperatura exerce ação proeminente na duração média dos instares, e, consequentemente, na duração do período ninfal.

TABE

Período de desenvolvimento ninfal do

| | Data da eclosão | Data da 1.ª muda | Duração do 1.º instar | Temperatura média °C | Data da 2.ª muda | Duração do 2.º instar | Temperatura média °C | Data da 3.ª muda |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Média | — | — | 3,6 | 25,3 | — | 2,6 | 25,1 | — |
| | 5-2 | 8-2 | 3 | 26,3 | 11-2 | 3 | 25,4 | 14-2 |
| | 5-2 | 9-2 | 4 | 26,4 | 12-2 | 3 | 24,3 | 14-2 |
| | 5-2 | 9-2 | 4 | 26,4 | 12-2 | 3 | 24,3 | 14-2 |
| | 5-2 | 8-2 | 3 | 26,3 | 10-2 | 2 | 26,0 | 14-2 |
| | 5-2 | 9-2 | 4 | 26,4 | 12-2 | 3 | 24,3 | 14-2 |
| | 7-2 | 10-2 | 3 | 26,3 | 12-2 | 2 | 24,0 | 15-2 |
| | 6-2 | 10-2 | 4 | 26,3 | 12-2 | 2 | 24,0 | 15-2 |
| | 7-2 | 10-2 | 3 | 26,3 | 13-2 | 3 | 24,1 | 15-2 |
| | 7-2 | 10-2 | 3 | 26,3 | 13-2 | 3 | 24,1 | 15-2 |
| | 6-2 | 10-2 | 4 | 26,3 | 13-2 | 3 | 24,1 | 15-2 |
| | 7-2 | 11-2 | 4 | 25,7 | 14-2 | 3 | 24,4 | 16-2 |
| | 6-2 | 11-2 | 5 | 25,9 | 14-2 | 3 | 24,4 | 16-2 |
| | 7-2 | 11-2 | 4 | 25,7 | 14-2 | 3 | 24,4 | 16-2 |
| | 7-2 | 10-2 | 3 | 26,3 | 13-2 | 3 | 24,1 | 16-2 |
| | 8-2 | 11-2 | 3 | 25,4 | 14-2 | 3 | 24,4 | 17-2 |
| | 10-2 | 14-2 | 4 | 24,3 | 17-2 | 3 | 25,8 | 19-2 |
| | 11-2 | 14-2 | 3 | 24,4 | 17-2 | 3 | 25,8 | 19-2 |
| | 12-2 | 15-2 | 3 | 24,9 | 17-2 | 2 | 26,0 | 19-2 |
| | 12-2 | 16-2 | 4 | 25,0 | 19-2 | 3 | 26,8 | 21-2 |
| | 12-2 | 17-2 | 5 | 25,3 | 19-2 | 2 | 26,8 | 21-2 |
| | 14-2 | 18-2 | 4 | 26,1 | 20-2 | 2 | 25,6 | 22-2 |
| | 14-2 | 17-2 | 3 | 25,8 | 20-2 | 3 | 26,0 | 23-2 |
| | 25-2 | 1-3 | 4 | 26,7 | 3-3 | 2 | 25,8 | 5-3 |
| | 23-2 | 26-2 | 3 | 26,1 | 1-3 | 3 | 26,8 | 4-3 |
| | 25-2 | 28-2 | 3 | 26,9 | 3-3 | 3 | 25,8 | 6-3 |
| | 25-2 | 1-3 | 4 | 26,7 | 4-3 | 3 | 25,4 | 6-3 |
| | 28-2 | 4-3 | 4 | 25,5 | 6-3 | 2 | 23,7 | 8-3 |
| | 1-3 | 5-3 | 4 | 24,8 | 7-3 | 2 | 24,4 | 10-3 |
| | 1-3 | 5-3 | 4 | 24,8 | 7-3 | 2 | 24,4 | 10-3 |
| | 1-3 | 5-3 | 4 | 24,8 | 8-3 | 3 | 24,3 | 11-3 |
| | 1-3 | 5-3 | 4 | 24,8 | 8-3 | 3 | 24,3 | 11-3 |
| | 1-3 | 5-3 | 4 | 24,8 | 8-3 | 3 | 24,3 | 12-3 |
| | 7-3 | 11-3 | 4 | 23,9 | 14-3 | 3 | 23,6 | 17-3 |
| | 8-3 | 11-3 | 3 | 23,9 | 13-3 | 2 | 23,4 | 15-3 |
| | 8-3 | 12-3 | 4 | 23,8 | 15-3 | 3 | 24,0 | 17-3 |
| | 8-3 | 12-3 | 4 | 23,8 | 15-3 | 3 | 24,0 | 17-3 |
| | 10-3 | 14-3 | 4 | 23,8 | 17-3 | 3 | 26,1 | 20-3 |
| | 12-3 | 15-3 | 3 | 24,0 | 18-3 | 3 | 26,5 | 21-3 |
| | 12-3 | 15-3 | 3 | 24,0 | 18-3 | 3 | 26,5 | 21-3 |
| | 15-3 | 18-3 | 3 | 26,5 | 21-3 | 3 | 24,4 | 23-3 |
| | 16-3 | 21-3 | 5 | 25,5 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 16-3 | 21-3 | 5 | 25,5 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 16-3 | 20-3 | 4 | 25,5 | 23-3 | 3 | 25,6 | 25-3 |
| | 17-3 | 20-3 | 3 | 24,6 | 23-3 | 3 | 25,6 | 25-3 |
| | 17-3 | 22-3 | 5 | 25,0 | 25-3 | 3 | 25,8 | 27-3 |
| | 18-3 | 21-3 | 3 | 24,4 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 18-3 | 21-3 | 3 | 24,4 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 18-3 | 21-3 | 3 | 24,4 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 18-3 | 21-3 | 3 | 24,4 | 24-3 | 3 | 25,7 | 26-3 |
| | 18-3 | 22-3 | 4 | 24,8 | 24-3 | 2 | 25,7 | 27-3 |
| | 19-3 | 22-3 | 3 | 25,6 | 25-3 | 3 | 25,8 | 27-3 |
| | 19-3 | 23-3 | 4 | 25,6 | 25-3 | 2 | 26,1 | 28-3 |
| | 19-3 | 22-3 | 3 | 25,6 | 24-3 | 2 | 25,7 | 26-3 |
| | 20-3 | 23-3 | 3 | 25,6 | 25-3 | 2 | 26,1 | 27-3 |
| | 23-3 | 26-3 | 3 | 26,2 | 28-3 | 2 | 25,6 | 31-3 |
| | 23-3 | 26-3 | 3 | 26,2 | 28-3 | 2 | 25,6 | 31-3 |

LA 7

*H. nobilellus* — Campinas — 1942

| Duração do 3.º instar | Temperatura média °C | Data da 4.ª muda | Duração do 4.º instar | Temperatura média °C | Data da 5.ª muda | Duração do 5.º instar | Temperatura média °C | Duração da eclosão a adulto | Temperatura média °C. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,4 | 25,3 | — | 2,5 | 25,2 | — | 3,5 | 25,4 | 14,8 | 25,2 |
| 3 | 24,4 | 16-2 | 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 15 | 25,6 |
| 2 | 24,7 | 16-2 | 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 15 | 25,6 |
| 2 | 24,7 | 16-2 | 2 | 25,4 | 21-2 | 5 | 25,9 | 16 | 25,5 |
| 4 | 24,3 | 16-2 | 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 15 | 25,6 |
| 2 | 24,7 | 16-2 | 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 15 | 25,6 |
| 3 | 24,9 | 17-2 | 2 | 26,0 | 20-2 | 3 | 26,0 | 13 | 25,5 |
| 3 | 24,9 | 17-2 | 2 | 26,0 | 20-2 | 3 | 26,0 | 14 | 25,6 |
| 2 | 25,3 | 17-2 | 2 | 26,0 | 20-2 | 3 | 26,0 | 13 | 25,5 |
| 2 | 25,3 | 17-2 | 2 | 26,0 | 20-2 | 3 | 26,0 | 13 | 25,5 |
| 2 | 25,3 | 17-2 | 2 | 26,0 | 20-2 | 3 | 26,0 | 14 | 25,6 |
| 2 | 25,4 | 19-2 | 3 | 26,8 | 23-2 | 4 | 25,2 | 16 | 25,5 |
| 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 24-2 | 4 | 25,5 | 18 | 25,5 |
| 2 | 25,4 | 20-2 | 4 | 26,2 | 23-2 | 3 | 25,5 | 16 | 25,5 |
| 3 | 25,3 | 21-2 | 5 | 25,9 | 25-2 | 4 | 25,9 | 18 | 25,5 |
| 3 | 25,8 | 20-2 | 3 | 26,0 | 23-2 | 3 | 25,5 | 15 | 25,4 |
| 2 | 26,8 | 22-2 | 3 | 25,0 | 25-2 | 3 | 25,9 | 15 | 25,4 |
| 2 | 26,8 | 22-2 | 3 | 25,0 | 25-2 | 3 | 25,9 | 14 | 25,5 |
| 2 | 26,8 | 22-2 | 3 | 25,0 | 25-2 | 3 | 25,9 | 13 | 25,6 |
| 2 | 24,6 | 23-2 | 2 | 25,8 | 26-2 | 3 | 26,1 | 14 | 25,7 |
| 2 | 24,6 | 23-2 | 2 | 25,8 | 26-2 | 3 | 26,1 | 14 | 25,7 |
| 2 | 25,3 | 24-2 | 2 | 25,7 | 27-2 | 3 | 26,7 | 13 | 26,0 |
| 3 | 25,5 | 25-2 | 2 | 25,9 | 28-2 | 3 | 27,0 | 14 | 26,0 |
| 2 | 23,9 | 7-3 | 2 | 24,4 | 11-3 | 4 | 23,9 | 14 | 25,0 |
| 3 | 25,4 | 7-3 | 3 | 24,0 | 12-3 | 5 | 23,8 | 17 | 25,1 |
| 3 | 24,0 | 8-3 | 2 | 24,4 | 12-3 | 4 | 23,8 | 15 | 24,9 |
| 2 | 23,7 | 8-3 | 2 | 24,4 | 13-3 | 5 | 23,7 | 16 | 24,8 |
| 2 | 24,4 | 11-3 | 3 | 23,9 | 15-3 | 4 | 23,9 | 15 | 24,3 |
| 3 | 23,7 | 12-3 | 2 | 24,0 | 14-3 | 2 | 23,7 | 13 | 24,2 |
| 3 | 23,7 | 12-3 | 2 | 24,0 | 16-3 | 4 | 24,4 | 15 | 24,3 |
| 3 | 23,9 | 14-3 | 3 | 23,6 | 17-3 | 3 | 26,1 | 16 | 24,5 |
| 3 | 23,9 | 14-3 | 3 | 23,6 | 17-3 | 3 | 26,1 | 16 | 24,5 |
| 4 | 23,8 | 14-3 | 2 | 23,7 | 17-3 | 3 | 26,1 | 16 | 24,5 |
| 3 | 26,1 | 20-3 | 3 | 24,6 | 22-3 | 2 | 25,7 | 15 | 24,7 |
| 2 | 24,4 | 18-3 | 3 | 26,5 | 23-3 | 5 | 24,9 | 15 | 24,7 |
| 2 | 26,7 | 20-3 | 3 | 24,6 | 24-3 | 4 | 25,7 | 16 | 24,8 |
| 2 | 26,7 | 20-3 | 3 | 24,6 | 24-3 | 4 | 25,7 | 16 | 24,8 |
| 3 | 24,6 | 22-3 | 2 | 25,7 | 25-3 | 3 | 25,8 | 15 | 25,1 |
| 3 | 24,4 | 23-3 | 2 | 25,6 | 26-3 | 3 | 26,2 | 14 | 25,3 |
| 3 | 24,4 | 23-3 | 2 | 25,6 | 26-3 | 3 | 26,2 | 14 | 25,3 |
| 2 | 25,6 | 26-3 | 3 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 14 | 25,6 |
| 2 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 2-4 | 4 | 25,1 | 17 | 25,5 |
| 2 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 2-4 | 4 | 25,1 | 17 | 25,5 |
| 2 | 26,1 | 27-3 | 2 | 26,4 | 30-3 | 3 | 25,4 | 14 | 25,7 |
| 2 | 26,1 | 27-3 | 2 | 26,4 | 1-4 | 5 | 25,5 | 15 | 25,5 |
| 2 | 26,4 | 29-3 | 2 | 24,9 | 2-4 | 4 | 25,1 | 16 | 25,4 |
| 2 | 26,2 | 29,3 | 3 | 25,4 | 1-4 | 3 | 25,8 | 14 | 25,5 |
| 2 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 1-4 | 3 | 25,8 | 14 | 25,5 |
| 2 | 26,2 | 28-3 | 2 | 25,6 | 1-4 | 4 | 25,7 | 14 | 25,5 |
| 2 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 1-4 | 3 | 25,8 | 14 | 25,5 |
| 3 | 26,3 | 30-3 | 3 | 25,4 | 2-4 | 3 | 24,8 | 15 | 25,3 |
| 2 | 26,4 | 29-3 | 2 | 24,9 | 2-4 | 4 | 25,1 | 14 | 25,5 |
| 3 | 25,8 | 30-3 | 2 | 25,7 | 3-4 | 4 | 23,9 | 15 | 25,2 |
| 2 | 26,2 | 29-3 | 3 | 25,4 | 1-4 | 3 | 25,8 | 13 | 25,7 |
| 2 | 26,4 | 29-3 | 2 | 24,9 | 2-4 | 4 | 25,1 | 13 | 25,5 |
| 3 | 26,0 | 3-4 | 3 | 23,0 | 7-4 | 4 | 23,5 | 15 | 24,7 |
| 3 | 26,0 | 2-4 | 2 | 23,9 | 7-4 | 5 | 23,1 | 15 | 24,7 |

As temperaturas mais elevadas reduzem, como as mais baixas aumentam, o período de evolução: enquanto à temperatura média de 24°,6 C. dispenderam 15,53 dias, em média, na de 25°,4 C. dispenderam cerca de um dia menos, para completarem o estádio ninfal.

De um modo geral o primeiro e último instares são os mais longos, com a duração média de 3,6 e 3,5 dias, às temperaturas médias de 25°,3 C. e 25°,4 C., respectivamente. Os segundo, terceiro e quarto tiveram menor duração, mais ou menos semelhantes, dispendendo em média, 2,6, 2,4 e 2,5 às temperaturas de 25°,1 C., 25°,3 C. e 25°,2 C., respectivamente. Da eclosão do ovo até a transformação em adulto foram necessários em média 14,8 dias, à temperatura de 25°,2 C.

TABELA 8

Resumo do desenvolvimento do *H. nobilellus* com a duração dos estádios
Campinas, 1942

| Fases evolutivas | Duração em dias | | |
|---|---|---|---|
| | média | máxima | mínima |
| Ovo | 11,59 | 20 | 9 |
| Est. ninfal | | | |
| 1.° instar | 3,6 | 5 | 3 |
| 2.° instar | 2,6 | 3 | 2 |
| 3.° instar | 2,4 | 4 | 2 |
| 4.° instar | 2,5 | 5 | 2 |
| 5.° instar | 3,5 | 5 | 2 |

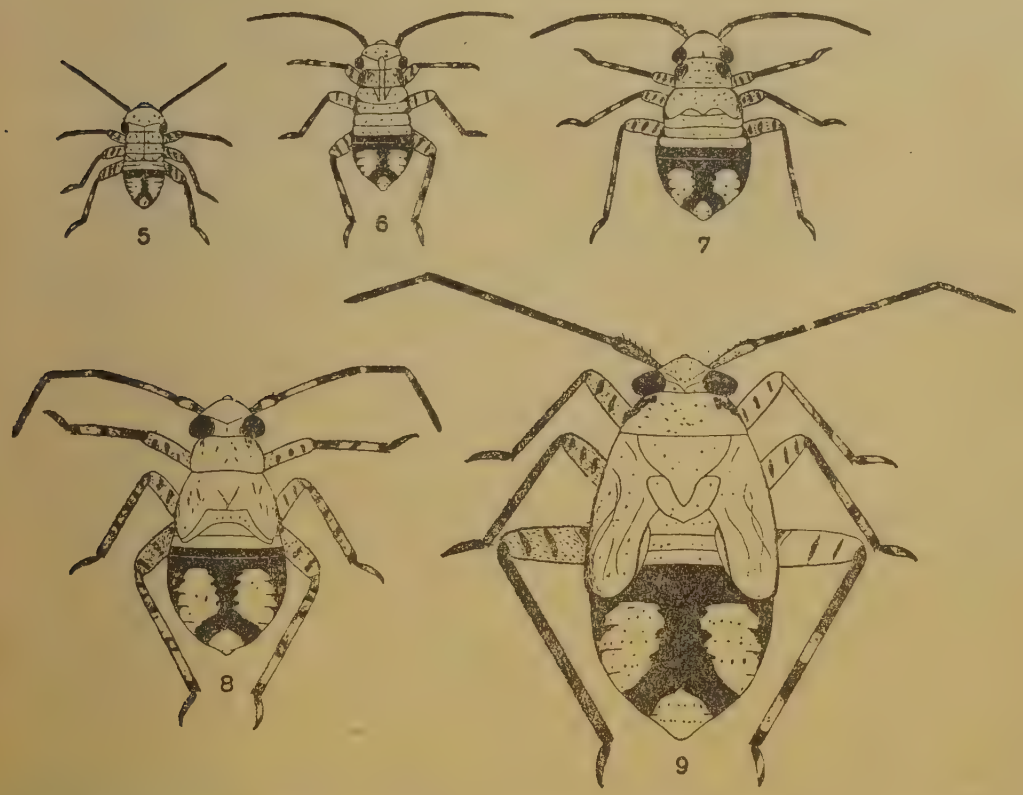
Tanto os machos como as fêmeas se desenvolveram em prazos semelhantes. Na tabela 8, onde se resume o tempo requerido durante as diversas fases do desenvolvimento, pode-se notar as variações consideraveis a que cada fase está sujeita.

## DESENVOLVIMENTO NINFAL

O período ninfal do percevejo rajado do algodoeiro, *Horcius nobilellus*, consta de cinco instares (Figs. 5-9). A não ser no tamanho e em certas particularidades, todas as fases são de um modo geral muito semelhantes entre si. O primeiro instar é mais caracterizado pelo corpo delgado e patas e rostrum longos e delicados; nos demais, do segundo ao quinto, a ninfa apresenta um rápido desenvolvimento torácico e abdominal, sendo este, principalmente, muito robusto. Nos dois últimos, em que as tecas alares são muito evidentes, ela assemelha-se, notadamente no quinto, ao adulto.

1.º Instar; — Comprimento do corpo: 1 mm. Largura da cabeça: 0,376 mm. Largura entre os olhos: 0,252 mm. Comprimento dos segmentos da antena: 1.º: 0,153 mm.; 2.º: 0,240 mm.; 3.º: 0,176 mm.; 4.º: 0,396 mm.

Cabeça tão larga como o protorax ou pouco mais, arredondada. Côr amarelo-parda, translúcida após a eclosão, tornando-se mais pronunciada após a alimentação. Olhos proeminentes, escarlates, brilhantes, circundados por uma borda amarelo-clara; partindo desta, na região anterior dos olhos, existem duas linhas amareladas que se unem, no centro (na linha imaginária que atravessa transversalmente a cabeça na região dos olhos), com a linha dorsal, tambem




Figs. 5-9 — Fases do estádio ninfal do *Horcius nobilellus* (BERG) × 12 (Autor del.)

amarelada e que se projeta um pouco para a frente e se estende até as cintas escarlates dos segmentos abdominais; zona compreendida entre olhos e antenas com manchas escarlates; porção entre estas e fronte com salpicos da mesma côr. Antena pubescente, com o 1.º segmento amarelado, robusto, dotado de uma mancha parda na região mediana, e extremidade distal vermelha; do lado interno, lateralmente, uma faixa longitudinal avermelhada; alguns pêlos mais fortes são notados no lado interno. O 2.º segmento com a metade anterior vermelha e a posterior amarelada, tendo nesta um anel vermelho na zona mediana. O 3.º segmento com os dois terços anteriores vermelhos e o posterior amarelado. O 4.º segmento vermelho, apenas com uma pequena porção na extremidade posterior, amarelada. Rostrum forte, trisegmentado, amarelado, com a extremidade pardacenta, estendendo-se até pouco mais da metade do abdomem. Corpo amarelo-

claro ou amarelo-pardacento, com a região pleural, quer torácica, quer abdominal, manchada de vermelho. Segmentos torácicos distintos, com o dorso amarelo-pardo; protorax com uma mancha vermelha atrás dos olhos. Abdomem estreito, alongado, afilando para a região caudal, fortemente constrito antes da extremidade. Depois de ingerido o alimento, o abdomem toma a forma globosa alongada. Extremidade caudal com um processo invaginado, que se apresenta trilobado externamente, quando a ninfa é morta pelo clorofórmio; duas cintas escarlates são evidentes no 3.º e 4.º segmentos; nos 5.º e 6.º segmentos, dorsalmente e nas margens, pintalgados de vermelho; nos 7.º e 8.º, uma expansão da mancha vermelha dorsal, de modo a formar um *Y* invertido, cujos ramos abraçam a extremidade caudal. Patas longas amareladas, pubescentes, com aneis ou manchas avermelhadas; porção distal da tíbia, extremidades tarsais, pardacentas; unhas pardo-escuras ou pretas. Muitos pêlos sobre o corpo, mais abundantes na região anal.

2.º Instar: — Comprimento do corpo: 1,71 mm. Largura da cabeça: 0,480 mm. Largura entre os olhos: 0,310 mm. Comprimento dos segmentos da antena: 1.º: 0,173 mm.; 2.º: 0,365 mm.; 3.º: 0,280 mm.; 4.º: 0,533 mm.

Excetuando-se o maior desenvolvimento, coloração mais pronunciada, quer do corpo, quer das manchas ou cintas, e a leve emarginação dos segmentos meso e metatorácico, dando a primeira leve indicação dos hemielitros, este instar é muito semelhante ao primeiro em sua última fase.

3.º Instar: — Comprimento do corpo: 2,40 mms. Largura da cabeça: 0,62 mm. Largura entre os olhos: 0,372 mm. Comprimento dos segmentos da antena: 1.º: 0,280 mm.; 2.º: 0,590 mm.; 3.º: 0,374 mm.; 4.º: 0,620 mm.

Cabeça tão larga como o protorax, amarelo-parda; fronte vermelho-escura. Olhos escarlates, brilhantes; região entre olhos e porção frontal, lateralmente, vermelha, com uma faixa branca no meio; uma linha amarela parte obliquamente da região anterior de cada olho, encontrando-se na zona mediana da cabeça; outra mais posterior, vermelha, parte da zona mediana entre olhos. Face ventral da cabeça amarelo-esverdeada; rostrum pardo-amarelo, com a extremidade do 3.º segmento escura.

Antenas pubescentes, delicadas e compridas; 1.º segmento amarelado, com um anel vermelho na extremidade distal, do qual parte, no lado interno, uma faixa avermelhada; alem da pubescência, alguns pêlos fortes são aí encontrados. 2.º segmento vermelho, com a metade posterior do terço mediano amarelada; 3.º e 4.º segmentos vermelhos, com a região posterior amarelada.

Protorax pardo-amarelado, com os bordos, atrás dos olhos, vermelhos. Meso e metatorax de côr semelhante, um pouco mais pronunciada, e bordos marchetados de vermelho; vê-se a emarginação das asas. No dorso do protorax há uma mancha triangular vermelha, cujo ângulo posterior atinge o metatorax. Face ventral do torax amarelado-esverdeada. 1.º e 2.º segmentos abdominais amarelos, com manchas vermelhas nas extremidades marginais; 3.º e 4.º quasi totalmente vermelhos, dando a impressão de uma faixa larga; do 5.º ao 7.º, uma faixa dorsal vermelha se abre em *Y* invertido, abraçando a porção caudal, amarelada. Ventralmente o abdomem é amarelo-esverdeado, com os lados pintalgados de vermelho; nos 6.º e 7.º segmentos essas manchas abraçam essa região abdominal.

Patas amareladas, com os femures e tíbias muito marcados de vermelho; extremidade posterior das tíbias, anteriores e posteriores dos tarsos e unhas, pardo-escuras.

Muitos pêlos são encontrados esparsamente sobre as partes do corpo da ninfa.

4.º Instar: — Comprimento do corpo: 3,00 mms. Largura da cabeça: 0,700 mm. Largura entre os olhos: 0,390 mm. Comprimento dos segmentos antenais: 1.º: 0,320 mm.; 2.º: 0,830 mm.; 3.º: 0,520 mm.; 4.º: 7,60 mms.

Muito semelhantes ao instar precedente. Mesotorax com as tecas alares muito visiveis, manchadas de vermelho; na porção dorsal deste segmento vê-se o esboço de uma mancha triangular, vermelha, chegando o ângulo posterior até o metatorax. Teca alar do mesotorax não cobrindo o 2.º par mesotorácico, mais claro, e chegando até a altura do 1.º segmento abdominal. O 2.º par de tecas alares atinge a metade do 2.º segmento abdominal.

5.º Instar: — Comprimento do corpo: 4,5 mms. Largura da cabeça: 1,00 mm. Largura entre os olhos: 0,42 mm. Comprimento dos segmentos antenais: 1.º: 0,475 mm.; 2.º: 1,332 mm.; 3.º: 0,680 mm.; 4.º: 0,840 mm.

Cabeça tão larga como o protorax, parda, com manchas vermelhas e pardacentas; fronte vermelho-escura, porção entre os olhos e fronte, vermelha, com uma faixa mediana creme; rostrum trisegmentado, amarelo pardo, com o 1.º segmento dotado de manchas vermelhas, e segmento apical pardo-escuro; região ventral da cabeça, esverdeada. Olhos escarlates, salientes, brilhantes. Antenas longas, pubescentes, com o 1.º segmento amarelo, região distal com um anel vermelho da qual parte, no lado interno, uma faixa vermelho-escura; com alguns pêlos longos e fortes; 2.º segmento com a metade anterior vermelho-escura, seguida de um anel amarelado e última porção vermelha; 3.º e 4.º vermelho-pardacentos, com a porção posterior amarela, havendo uma mancha circular vermelho-vivo na ligação com os segmentos precedentes. Protorax amarelo-esverdeado no dorso e ventre, lados pardo-avermelhados, mais escuros atrás dos olhos. Mesotorax vermelho-escuro ou castanho brilhante, com as tecas alares da mesma côr e sobre estas uma mancha amarela semi-circular que circunscreve a parte posterior de uma outra mancha dorsal triangular. Metatorax amarelo-pardo, mais claro no dorso, e tecas alares da mesma côr. As tecas alares atingem o 3.º segmento abdominal. Ventralmente o torax é esverdeado.

Abdomem com os 1.º e 2.º segmentos esverdeados; 3.º e 4.º de côr vermelha; 5.º, 6.º e 7.º segmentos lateralmente manchados de vermelho; dorsalmente há uma faixa vermelha que se alarga do 5.º ao 7.º segmento, para se bifurcar no 8.º, em forma de *Y* invertido, e abraçar a porção caudal. Corpo coberto de pêlos. Morto pelo clorofórmio, emerge um processo anal, trilobado, esverdeado. Tal processo serve para auxiliar a fixação do inseto nas superfícies, notadamente quando salta.

## INIMIGOS NATURAIS

Os conhecimentos atuais sobre o *H. nobilellus* demonstram que os inimigos naturais absolutamente não têm ação eficaz quanto à sua limitação. São escassíssimos e em número insuficiente.

Do ovo foi obtido um único exemplar de minúsculo *Hymenoptera,* em estado ninfal. De ovos colhidos no campo jamais se obteve outra indicação da existência dessa espécie indeterminada de parasita. Dos adultos foi obtida, em 2-3-1942, de material colhido numa cultura em Ribeirão Preto, uma espécie de *Diptera, Cyclodionaea,* tambem indeterminada. Indubitavelmente as aranhas, tão frequentes nos botões e maçãs, são os inimigos mais importantes. Foi observado que diferentes espécies desses aracnídeos alimentavam-se de ninfas e adultos da praga. Geralmente os botões que têm aranhas entre as bracteas não mostram sintomas de ataque e desenvolvem-se normalmente. Mas a-pesar-do número de *Horcius nobilellus* destruido por tais inimigos, essa quantidade de forma alguma pode ser considerada bastante para determinar um controle natural.

## INFLUÊNCIA DAS ÉPOCAS DE PLANTIO E DOS SOLOS NA INTENSIDADE DA INFESTAÇÃO

Inicialmente emprestou-se aos solos certa influência favoravel ao desenvolvimento da praga e consequentes prejuizos. Dado que quando a praga se tornou objeto de atenção os maiores alarmes partiram de Ribeirão Preto, presumivelmente houve a tendência de relacioná-la com os solos dessa região. As observações feitas nas zonas circunvizinhas mostraram prejuizos elevados, e ocasionalmente todos os solos daí pertenciam à categoria da chamada "terra roxa". O levantamento procedido na última safra evidenciou danos nas diversas regiões do Estado, nos mais variados tipos de solos. Conquanto seja ainda uma face da questão a resolver, não parece que a ação dos solos tenha influência decisiva.

E ao passo que a questão dos solos se nos apresenta duvidosa, a época do plantio, em todas as zonas, tem uma relação muito direta com os prejuizos motivados pela praga. Com muita facilidade poder-se-á verificar a ação do inseto nas culturas plantadas mais tardiamente. E os prejuizos tanto mais se avolumam quanto mais tarde for realizado o plantio. Os algodoais plantados em Setembro são os menos prejudicados (Est. 11, fig. *L*) ; os de Outubro, relativamente pouco, se o plantio não se efetuou depois da primeira quinzena. Daí por diante os prejuizos são sensiveis (Est. 9, fig. *F*). Conquanto o plantio de Setembro e começo de Outubro sofram algo com a praga, ela não é tão evidente. E isto se verifica porque tais culturas iniciam cedo a produção, antes de se ter avolumado a população do inseto nas culturas.

As maçãs já bem desenvolvidas não sofrem mais os efeitos nocivos da praga. A carga que corresponderia a meados de Janeiro-Fevereiro seria ainda muito prejudicada; no entanto o volume da safra já está garantido quando a quantidade de insetos assume elevadas proporções. Nas culturas mais tardias coincide o vulto da produção com a densa população da praga, oferecendo-lhe condições, muito favoraveis, somente escapando umas poucas maçãs já grandes, as primeiras produzidas e raras outras, que de algum modo escaparem à ação do inseto.

Dada, porem, a situação dos algodoais, em relação à broca do algodão e lagarta rosada, será preciso ponderar quanto à conveniência do plantio mais cedo. Não é novidade que as culturas cujos plantios se processam cedo dão uma produção mais compensadora em quantidade e qualidade. Até agora a broca do algodoeiro, *Gasterocercodes brasiliensis* HAMBL., constituiu um fator, e único, que desaconselhava o plantio mais cedo, dado o grande prejuizo que determina. Em vista, porem, dos resultados do seu combate por meio de pulverizações, (si bem que essa questão não seja do domínio público e, mesmo sendo-o, alguns anos sejam necessários para a sua adequada, racional e generalizada aplicação) esse problema estará resolvido si conjuntamente não se descurarem as demais medidas de profilaxia e combate preconizadas. Mesmo que esses tratamentos exijam mais atenção e sejam um pouco mais dispendiosos, sendo já compensadores quanto à broca, sê-lo-ão muito mais se se considerar que ao mesmo tempo se combatem duas pragas, das mais nocivas ao algodoeiro. Restará a lagarta rosada. Para as culturas de plantio praticado na primeira fase da estação, ela geralmente não se mostra muito nociva. Seu ataque é sempre muito maior nas plantações mais tardias. E uma das medidas aconselhadas para reduzir os seus efeitos reside justamente nessa antecipação. E' mister, porem, que se encare seriamente a necessidade do emprego das medidas de combate a essas principais pragas, aplicando-as convenientemente. Ao Estado compete a organização de um programa de ação. Os efeitos das pragas para o algodão, bem como para a generalidade das culturas em S. Paulo, só são comparaveis aos danos causados pela erosão. E' necessário que isso seja compreendido e sejam adotados planos de ação para o remediar.

## COMBATE

As práticas culturais, assim como o emprego de inseticidas, são recomendados no combate ao percevejo *Horcius nobilellus*. Aquelas são mais importantes e econômicas, sendo mais indicadas para as cul-

turas plantadas cedo, que proporcionam maior produção. Em anos favoraveis ao maior desenvolvimento da praga tais medidas são mais valiosas do que o combate direto por meio de inseticidas. As culturas tardias, sujeitas naturalmente a fatores outros, que diminuem a produção, são alem disso mais afetadas pela praga, e seu tratamento, mesmo quando satisfatório, não conduz a resultados muito lucrativos.

a) Medidas culturais: — E' óbvio que práticas culturais esmeradas favorecerão à melhor produção, independentes do aparecimento ou não do inseto. Mas o seu emprego determina condições menos favoraveis ao estabelecimento e multiplicação da praga.

Devido às gerações previamente formadas, e tambem às condições de temperatura e umidade, a população do percevejo rajado do algodoeiro atinge proporções nocivas a partir de Fevereiro. O plantio antecipado faz com que, ao se verificar o surto prejudicial da praga, a cultura já tenha a produção adiantada, sendo assim menos desastrosos os resultados.

Alem do algodoeiro o *Horcias nobilellus* se hospeda em outras plantas, notadamente nas da familia *Malvaceae*. As guaxumas, tão frequentes em todos os campos, devem ser pois eliminadas, mesmo quando situadas a maiores distâncias das culturas. Tal destruição deve ser constante e principalmente no intervalo entre as culturas. As vantagens decorrentes do combate a essas plantas vão alem da simples eliminação do hospedeiro de *H. nobilellus*, pois elas hospedam muitas outras pragas prejudiciais ao algodão e concorrem para amenizar as condições adversas proporcionadas pelo inverno ou período entre safras, oferecendo-lhes condições de sobrevivência. A broca do algodoeiro encontra nelas um valioso elemento, segundo foi dado constatar. Alem de fornecerem alimento, o que já era conhecido, numa delas, *Malvastrum coromandelianum*, a broca pode procriar, fato até então inédito, pois não se tinha conhecimento de outras plantas, alem de *Hibiscus esculentus*, *H. cannabinus* e algodão, que servissem de hospedeiros primários.

O *H. nobilellus* atravessa o intervalo que medêia as safras na forma de ovo incrustado nos tecidos tenros das plantas. Por isso, dado que o período hibernal se inicia cerca de meados de Abril, é conveniente que os algodoeiros e outros hospedeiros sejam destruidos tão cedo quanto possivel. A prática do arrancamento e queima das soqueiras, como processo de combate à broca, é de suma importância

como medida de controle ao *H. nobilellus*. Tal como é aconselhado para *G. brasiliensis* HAMBL., para surtir os efeitos desejados é necessário que seja executada generalizadamente, até fins de Junho. Esse processo, alem de ser uma forma de combate direto, tem o fim de tornar mais inadequadas as condições de sobrevivência das pragas, durante o inverno, qualquer que seja o estádio em que isso ocorra. Assim, é preciso que seja executado em tempo, para ampliar tanto quanto possivel o intervalo entre uma cultura e outra. Efetuado de modo diferente, os resultados não satisfazem, e são, por isso, antieconômicos.

b) Emprego de inseticidas: — O percevejo rajado do algodoeiro, oriundo do estádio que atravessou o inverno, inicia numa cultura a sua multiplicação. Inicialmente em quantidade reduzidíssima, aumenta de número, atingindo cerca de menos de 0,5% de botões infestados em meados de Dezembro. Em princípio de Janeiro já se encontram pouco mais de 2%, e cerca de 10% em meados desse mês. Daí por diante a praga cresce rapidamente, para atingir, na segunda quinzena de Fevereiro, o seu ponto culminante, com cerca de 60%; depois decresce gradualmente, conforme as condições se tornam menos propícias, já devido às condições climáticas, já devido à situação da lavoura. O combate por meio de inseticidas deve ser iniciado em época em que o inseto seja suficientemente numeroso para compensar o custo do tratamento, mas não tanto que já possa ter sido extremamente prejudicial. Por isso o tratamento tardio é praticamente inutil: exige maior número de repetições em menores intervalos, tornando-se muito oneroso e de resultados fracamente compensadores. O demasiado cedo é dispensavel. As aplicações iniciadas pouco antes ou durante a última quinzena de Janeiro parecem as mais recomendaveis. Pelos exames que procederá nos botões ou brotos terminais do algodoeiro, o lavrador poderá determinar a melhor ocasião, que para as zonas de Ribeirão Preto e Campinas não deve ser muito diversa da mencionada.

As infestações próximas de 8% devem sofrer combate, pois conquanto não pareçam nocivas e efetivamente estejam ocasionando prejuizos pequenos elas concorrerão para futuras perdas, difíceis de imaginar.

E' natural que haja interesse em protelar um combate quando a infestação é pequena e os algodoeiros estão carregados, prenun-

ciando, a-pesar dela, uma bôa colheita. Mas sobrevindo condições favoraveis, protelar o combate será transformar uma cultura lucrativa num fracasso, como se pôde observar em áreas que, tendo como centros Ribeirão Preto e Campinas, daí se distanciaram num raio de muitos quilómetros.

Os inseticidas a empregar devem ser na forma de pó, polvilhando-se com máquinas denominadas polvilhadeiras, de tipos e tamanhos variaveis, segundo as maiores ou menores extensões da cultura. Existem assim as manuais, de um ou dois bicos, individuais, que bastam para tratar até 5 Ha. de cultura durante a estação. Com as manuais adatadas às costas de um animal tratam-se até 20 Ha. As de tração animal cuidam de áreas até 60 Ha. Nas áreas maiores, ou é adotado maior número de máquinas dos tipos mencionados, ou serão empregadas as de maior capacidade, e tração mecânica.

Os polvilhamentos podem ser feitos em qualquer período do dia, mas são mais aconselhadas as aplicações feitas cedo, enquanto as plantas estão orvalhadas, e em dias calmos.

Quatro a cinco polvilhamentos repetidos com intervalo de 8-10 dias, si feitos a partir de meados de Janeiro, são normalmente necessários, e caso as chuvas não os venham prejudicar dentro de 36 horas após o tratamento. Do contrário precisarão ser repetidos. Si executados mais tarde, maior número de aplicações, com menor intervalo, são necessárias, porque sendo tais tratamentos mais eficazes contra o estádio ninfal, quanto mais protelado, maior o número de adultos que devem ser combatidos; e então os resultados não são tão pronunciados, não só em relação à praga diretamente, como porque, tendo sido já vultoso o prejuizo, tal tratamento não se mostra muito compensador.

Dentre os inseticidas recomendados, o enxofre, fina e uniformemente pulverizado, capaz de passar na proporção de 95-98% numa tela de 325 "mesh", e as misturas de enxofre, 80% + Verde Paris, 20% (ou 4:1), ou enxofre 66% + arseniato de calcio 33% (ou 2:1) salientam-se pelo combate de 60 a 80% da praga. O enxofre deve ser usado de preferência quando a infestação é pequena ou quando a população é constituida principalmente de ninfas. Quando os adultos são mais numerosos as misturas dão melhor controle.

As quantidades por Ha. variam naturalmente com o porte das plantas, espaçamento, etc. Em média são precisos de 14-18 quilos.

Outros inseticidas não se mostraram mais satisfatórios na redução da infestação, apresentando alguns deles o inconveniente de

prejudicar as plantas, alem de exigirem muito maior cuidado, devido aos malefícios que acarretam ao homem, como a mistura de Verde Paris 20%, Arseniato de cálcio 80%, empregados na base de 8-10 quilos por Ha.

As caldas, em pulverização, quer com enxofre, quer com oleos ou nicotina, não ofereceram as vantagens do pó, porque o líquido não atinge as partes onde o inseto busca proteção.

## "HORCIUS NOBILELLUS (BERG)" (HEM. MIR.) A PEST OF THE COTTON CULTURE OF THE STATE OF S. PAULO

*Abstract*

*Investigations of the life history, habits and control of the Miridae Horcius nobilellus* (BERG) *were conducted at the State of S. Paulo, Brazil.*

*For these four years past within this plant bug has become an important cotton pest, causing severe losses in many cotton fields extending over a rather wide area of the State. The injury to cotton plant resulting from attack by this species is manifested by excessive shedding of small squares, blossoms and immature bolls, and the supression of fruiting branches. Losses calculated for the 1941-42 crop are estimated conservatively at 50,000 contos de réis.*

*Technical descriptions of the adult and immature stages are given.*

*Cotton is the preferred food plant, but this insect has been found on several hosts principally Malvaceae plants and some others weeds very much abundant in the vicinity of the cotton cultures.*

*The reproduction is continuous throughout the summer and under natural conditions there are no distinct generations. This species hibernates in the egg stage and during the cold weather all the stages disappear from the fields, except the egg.*

*62.28% of females and 37.71% of males was the proportion of the sexes found for the insects collected in the cotton culture; a rather different proportion was found from laboratory individuals: 57.57% of males and 42.43% of females.*

*The average longevity of mated and unmated males was 16.4 and 23.6 days, respectively. The females, as a rule, lived longer than the males. The average longevity of unmated and mated females was 28.0 and 30.0 days, respectively.*

*Mating occurs 3-6 days after adult emergence and oviposition begins from 6-10 days, or on an average of 8.6 days. About 19.3 days are dispended on egg laying period. During the act of oviposition the plant tissue is punctured by the ovipositor and the eggs are laid within the plant. The tender tissues are preferred. In the laboratory the average number of eggs per female was 71.3, and the daily rate of egg deposition was 3.58. As many as 16 eggs were obtained at a singly day from one female and the most extensive oposition period was 30 days, in which 130 eggs were deposited by one female.*

*The incubation period for all eggs ranged from 9-20 days with an average of 11.49 days at 25°C.*

*There are five nymphal stages in the development of the insect. The nymphs are active and feed on the tender tissues of the plants by inserting the rostrum and sucking the plant sap. When the squares, blossoms and immature bolls are punctured a severe shedding is consequently observed.*

*The average for the nymphal development is about 14.8 days, and the time required for complete life cycle, from egg to adult, varies from 24 to 34 days, averaging 27.17 days in February and March.*

*No natural enemies of importance have been observed. Dissemination apparently is accomplished by flight. Artificial means of dissemination are not considered of any importance.*

*Apparently the soils are entirely secondary in determining the nature of damage and frequency of this pest in cotton fields. On other hand delaying planting is a direct responsible for the intensive attack by this insect. Cultural mesures control are recommended. These consist of the early destruction of host plant, practices of clean cultivation and early planting during September, principally in the regions where this pest is more dangerous.*

*Sulfur or the mixtures — 80% Sulfur and 20% Paris green (or 4:1) — or — Sulfur 66% and calcium arsenate 33% (or 2:1) — as a dust, gives effective control if used 14-18 Kilos by Ha. and 4-5 applications at 8-10 days intervals is employed when the population of the plant bug begins to increase more than 8%.*

## BIBLIOGRAFIA

1 — Berg, C. — 1883 — Hemiptera Argentina. — *An. Soc. Cient. Arg.* 16: 21-22.

2 — Hambleton, E. J. — 1938 — O percevejo "Horcius nobilellus (Berg)" como nova praga do algodoeiro em S. Paulo. Observações preliminares — *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 9: 85-92, c/ estampas.

3 — Hambleton, E. J. — 1939 — Experiencias para Combater o percevejo "Horcius nobilellus (Berg)" do algodão — *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 10: 207-218.

4 — Mendes, L. O. T. — 1938 — Observações sobre alguns insetos coletados sobre algodoeiros durante os anos de 1936-1937. *Bol. Tec. n.º 45, Inst. Agron. do Est. S. Paulo*, 15 pp.

5 — Sauer, H. F. G. — 1938 — A queda dos botões floriferos e das maçãs em formação dos algodoeiros — *O Biologico*, S. Paulo, 4: 192-195.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 7

Fig. *A* — Trecho de um algodoal atacado pelo *H. nobilellus* onde a queda dos botões e maçãs pequenas foi excessiva determinando grave redução na colheita. (autor, fot.).

Fig. *B* — Os prejuizos causados pelo *H. nobilellus* podem ser avaliados quando se considera a serie de *squares*, botões e maçãs que são sacrificados. Nas maçãs podem ser vistas as manchas provocadas pelas picadas do percevejo durante a alimentação. (autor, fot.).

### Estampa 8

Fig. *C* — Para estudos do *H. nobilellus* no campo foram utilizadas gaiolas para proteger os algodoeiros. (autor, fot.).

Fig. *D* — Ao lado de flôr normal, uma outra mostra a atrofia provocada pelo ataque do *H nobilellus* no botão. (autor, fot.).

### Estampa 9

Fig. *E* — Pouca produção e desenvolvimento anormal são as consequências de intenso ataque do *H. nobilellus*. (autor, fot.).

Fig. *F* — Por causa do ataque do *H. nobilellus* esse tipo de produção baixa é o usual; as partes frutíferas superiores foram eliminadas pelo percevejo. Observe-se o excessivo desenvolvimento desse algodoeiro. (B. Mazza, fot.).

Fig. *G* — Algodoeiro de uma cultura plantada em começos de Novembro. A produção baixa pequena, seguida de um intervalo sem capulhos e encimada por uma nova carga de botões mostra o ciclo da praga no campo e seu desaparecimento em Abril. (autor, fot.).

### Estampa 10

Fig. *H* — Mangas de vidro superpostas, sobre vasos com terra umidecida, ofereceram boas condições para as observações do *H. nobilellus* em laboratório. (autor, fot.).

Fig. *I* — Comparação entre dois algodoeiros de um algodoal, plantados na mesma época e protegidos por gaiolas. Verifica-se claramente no da esquerda o resultado do ataque do *H. nobilellus*, comparado com a planta testemunha à direita. (autor, fot.).

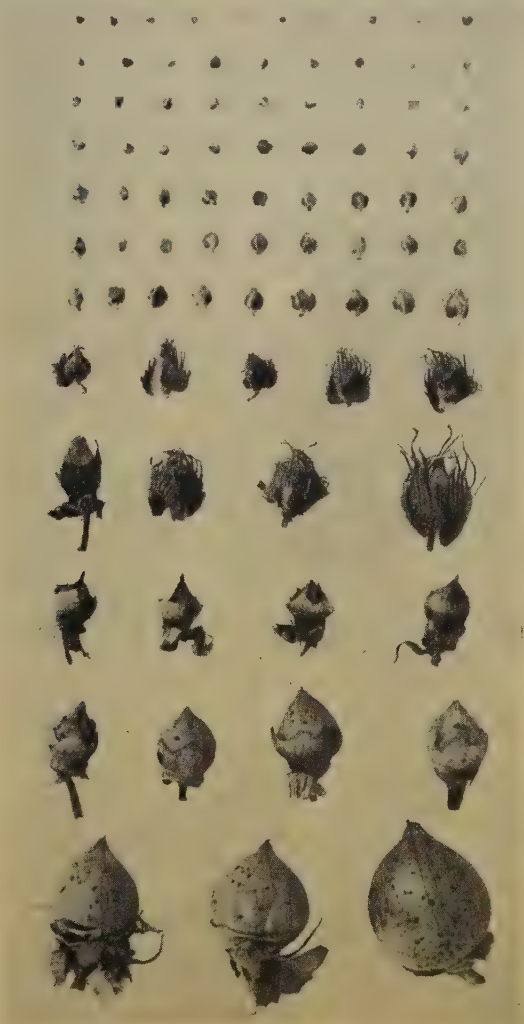
### Estampa 11

Fig. *J* — Corte de um pedúnculo de um botão floral, mostrando ovos de *H. nobilellus* × 28. (B. Mazza, fot.).

Fig. *K* — Ovos de *H. nobilellus* inseridos num pedúnculo de um botão floral, × 28. (B. Mazza, fot.).

Fig. *L* — Conquanto haja prejuizos evidentes, os algodoeiros plantados em Setembro apresentam-se mais produtivos, a-pesar-de tambem sofrerem a ação do *H. nobilellus*. (autor, fot.).

*A*



*B*

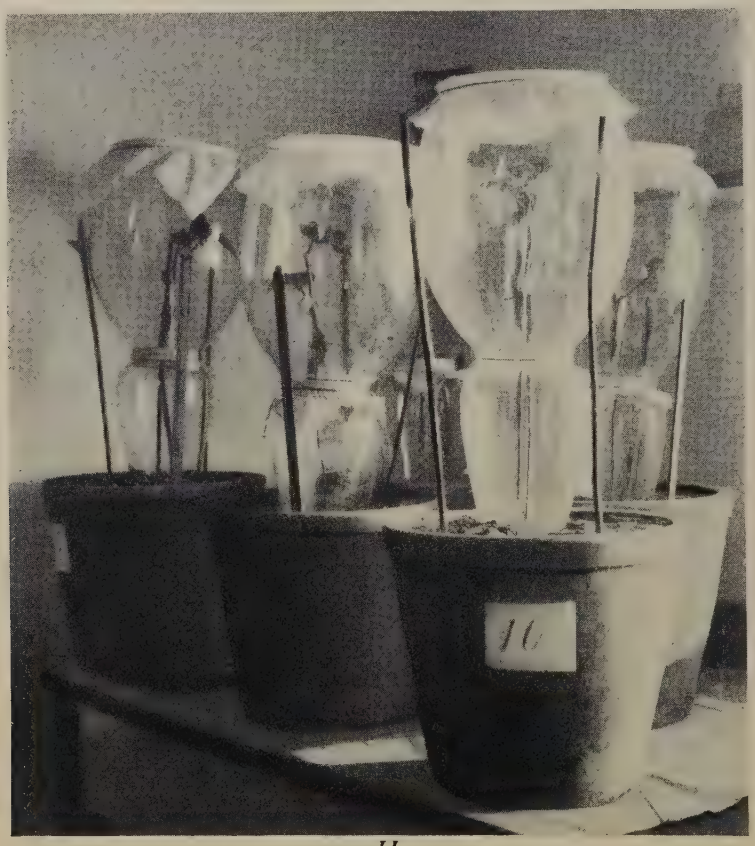
*C*

*D*

*E*

*F*

*G*




*H*

*I*

*J*

*K*

*L*

Vol. 13 — Art. 7 Outubro de 1942

# CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA
## (ATTA spp. - HYMENOPTERA-FORMICIDAE)
## II - O SAÚVEIRO INICIAL
## (ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908)

POR

M. Autuori

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 1 figura no texto e estampas 12-22

I - Método de trabalho de campo
II - Canal e câmara iniciais
III - População inicial
IV - Método de trabalho de laboratório
V - Atividades do saúveiro inicial
VI - Várias

### I — MÉTODO DE TRABALHO DE CAMPO

Os saúveiros iniciados em lugares determinados, em nosso campo experimental, (AUTUORI 1941) (*) permitiram-nos acompanhar o desenvolvimento do ninho em todos seus pormenores durante a fase inicial, isto é, desde a penetração da içá (rainha) na terra até o aparecimento das primeiras operárias.

O método de trabalho, usado para este fim, consistiu em retirar diariamente, do campo experimental, blocos de terra contendo saúveiros iniciais que, em seguida, eram abertos e examinados no laboratório. Damos abaixo uma descrição da técnica para retirar do solo tais saúveiros iniciais.

A 30 cms. mais ou menos, em volta do ponto onde a içá penetrara, abriamos valetas de 30 a 40 cms. de profundidade, isolando, dessa maneira, um bloco de terra de 25 a 30 cms. de diâmetro. Durante o trabalho de excavação mantinhamos a terra húmida afim de evitar desmoronamentos (Estampa 22, fig. *A*).

Por meio de um facão, retiravamos, aos poucos fatias finas de terra, até reduzir o bloco isolado a 15-20 cms. de diâmetro. A retirada da terra, em camadas finas, garantia-nos estar a panela inicial, contendo a içá, dentro daquela porção de terra isolada. Em seguida o bloco de terra era circundado por uma lata cilíndrica, sem fundo, e destacado com um ligeiro golpe. O conjunto era então transportado para o laboratório, onde, retirada a lata, ficavamos com o bloco de terra pronto para ser aberto e examinado.

(*) — Para bibliografia deste trabalho vide meu artigo anterior: "Contribuição para o conhecimento da saúva (Atta spp. — Hym. Formicidae) I — Evolução do saúveiro — (Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908) Arq. Inst. Biologico, Nov., 1941, Vol. 12, pags. 197-228.

Dispondo de elevado número de saúveiros iniciais, pudemos abrir diariamente de um a tres blocos de terra.

## II — CANAL E CÂMARA INICIAIS

O canal inicial é reto, vertical ou ligeiramente obliquo. Seu diâmetro é de 9 a 12 mm., isto é, suficientemente largo para permitir a entrada e saida da içá durante o seu trabalho inicial de perfuração. O canal desemboca na parte latero-superior da câmara. Em dois casos apenas registramo-lo na parte centro-superior da panela.

A profundidade do canal, conforme poderá ser visto na tabela abaixo, varia de oito e meio a quinze cms. incluindo-se nesta medida a altura da panela (Estampa 22, fig. *B*).

A câmara inicial é hemisferica. A sua base não é perfeitamente circular mas um tanto oblonga e ligeiramente côncava. A abóbada é regular. As paredes são perfeitamente lisas, sem nenhuma rachadura ou depressão. As pequenas raizes de vegetais que porventura aí se encontram são aparadas cuidadosamente rente às paredes.

TABELA 1

Medição de canais e panelas iniciais

| Número | Canal | Panelas | |
|---|---|---|---|
| | Profundidade | Maior alt. | Diâmetros da base |
| 1 | 125 mm. | 22 mm. | 30 - 30 mm. |
| 2 | 105 mm. | 21 mm. | 36 - 32 mm. |
| 3 | 120 mm. | 22 mm. | 30 - 30 mm. |
| 4 | 100 mm. | 20 mm. | 37 - 28 mm. |
| 5 | 115 mm. | 18 mm. | 32 - 35 mm. |
| 6 | 100 mm. | 20 mm. | 27 - 42 mm. |
| 7 | 85 mm. | 20 mm. | 35 - 36 mm. |
| 8 | 115 mm. | 19 mm. | 28 - 38 mm. |
| 9 | 115 mm. | 20 mm. | 30 - 36 mm. |
| 10 | 150 mm. | 20 mm. | 45 - ? mm. |
| 11 | 115 mm. | 25 mm. | 40 - 45 mm. |

## III — POPULAÇÃO INICIAL

Na tabela seguinte temos a sequência e o desenvolvimento, a contar da penetração da içá na terra, do fungo, dos primeiros ovos, larvas, pupas e adultos.

TABELA 2

Desenvolvimento do saúveiro inicial

Todas as içás penetraram no solo em 12-11-1939

| Numeração dos saúveiros iniciais | N.º de dias decorridos entre a penetração da içá e o exame | Fungo | Número de | | | | Vide Estampas N.º | Observ. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Ovos | Larvas | Pupas | Adultos | | |
| 14 F. | 1 | (—) (1) | — | — | — | — | — | V. texto |
| 3 C. | 2 | ( ' ) (2) | — | — | — | — | — | V. texto |
| 13 E. | 2 | ( ' ) | — | — | — | — | — | V. texto |
| 1 B. | 3 | ( ' ) | — | — | — | — | — | V. texto |
| ? | 4 | ( ' ) | — | — | — | — | — | V. texto |
| 3 G. | 5 | ( ' ) | 1 | — | — | — | 12.A. | V. texto |
| 6 C. | 6 | ( ' ) | 12 | — | — | — | 12.B. | V. texto |
| 6 G. | 8 | ( ' ) | 35 | — | — | — | — | |
| 6 F. | 9 | ( ' ) | 26 | — | — | — | 12.C. | V. texto |
| 19 A. | 10 | (—) | 60 | — | — | — | — | V. texto |
| 19 | 11 | ( ' ) | 44 | — | — | — | — | V. texto |
| 19 B. | 12 | ( ' ) | 50 | — | — | — | 12.D. | V. texto |
| 1 F. | 13 | (—) | — | — | — | — | — | V. texto |
| 1 E. | 15 | ( ' ) | 52 | — | — | — | — | |
| 6 A. | 16 | ( ' ) | 73 | — | — | — | — | V. texto |
| 2 I. | 17 | ( ' ) | 53 | — | — | — | — | |
| 3 I. | 18 | ( ' ) | 108 | — | — | — | 13.A. | V. texto |
| 3 A. | 19 | ( ' ) | 79 | — | — | — | — | |
| 4 B. | 20 | ( ' ) | 105 | — | — | — | — | |
| 4 D. | 22 | ( ' ) | 123 | — | — | — | 13.B. | |
| 6 B. | 23 | ( ' ) | 142 | — | — | — | 13.C. | |
| 6 E. | 24 | ( ' ) | 139 | — | — | — | — | |
| 6 I. | 25 | ( ' ) | 172 | — | — | — | 13.D. | |
| 7 F. | 28 | ( ' ) | 120 | — | — | — | — | |
| 7 E. | 29 | ( ' ) | 150 | — | — | — | — | |
| 7 C. | 31 | ( ' ) | 147 | 41 | — | — | 14.A-B. | V. texto |
| 2 F. | 33 | ( ' ) | 130 | 14 | — | — | — | |
| 8 G. | 34 | ( ' ) | ? | ? | — | — | — | |
| 9 E. | 36 | ( ' ) | 108 | 50 | — | — | 15.A. | V. texto |
| 10 A. | 38 | ( ' ) | 145 | 50 | — | — | — | V. texto |
| 10 G. | 41 | ( ' ) | 133 | 93 | — | — | 15.B. | |
| 12 C. | 43 | ( ' ) | 97 | 115 | — | — | — | V. texto |
| 13 F. | 46 | ( ' ) | 134 | 102 | — | — | — | |
| 3 H. | 50 | ( ' ) | 82 | 67 | — | — | 16 | |
| 5 A. | 52 | ( ' ) | 62 | 91 | 8 | — | 17 | V. texto |
| 5 D. | 53 | ( ' ) | 85 | 58 | 5 | — | — | |
| 22 C. | 55 | ( ' ) | 68 | 116 | 38 | — | 18 | |
| 22 G. | 58 | ( ' ) | 66 | 157 | 41 | — | — | |
| 24 I. | 62 | ( ' ) | 47 | 99 | 66 | 1 | 19 | V. texto |
| 25 E. | 66 | ( ' ) | 61 | 126 | 56 | 1 | — | |
| 26 B. | 68 | ( ' ) | 78 | 98 | 36 | 16 | — | |
| 26 D. | 72 | ( ' ) | 107 | 126 | 63 | 15 | 20 | |

(1) (—) Sem fungo.
(2) ( ' ) Com fungo.

Pelos dados acima, verificamos que o fungo é regurgitado pela içá 48 horas após o início de seu trabalho de perfuração, e os primeiros ovos são postos somente 5-6 dias após. As primeiras larvas aparecem

depois de 30-31 dias a contar do vôo nupcial; as primeiras pupas e primeiras adultas, depois de 51-52 e 62-66 dias, respectivamente.

As primeiras adultas permanecem no interior da panela inicial, cerca de 20 dias, antes de iniciarem a desobstrução do canal feito pela içá e entrarem em contato com o exterior.

NOTAS À TABELA 2 — Saúveiro inicial 14 F. — Exame em 13-11-1939. Na panela inicial encontramos a içá viva. Não havia vestígios de fungo. Esta içá foi retirada e posta numa placa Petri. Em 14-11-1939 a içá expeliu a porção de fungo, que media 1,2 mm. de diâmetro, era de coloração escura, quasi preta. Este fungo não emitiu filamentos micelianos, apesar da içá ter cuidado dele durante dois dias, adubando-o e "lambendo-o" repetidamente.

Saúveiro inicial 3 C. — Exame 14-11-1939 (às 9 hs.). Encontramos na panela a içá e a porção de fungo, apresentando este o mesmo aspecto descrito no saúveiro 14 F.

Saúveiro inicial 13 E. — Exame em 14-11-1939 (às 16 horas). Observamos o mesmo já descrito no saúveiro 3 C.

Saúveiro inicial 1 B. — Exame em 15-11-1939. Encontramos a içá viva e o fungo um pouco maior (1,6 mm), apresentando uma coloração claro-acinzentada, notando-se pequenos filamentos na sua superfície.

Saúveiro inicial? — Exame em 16-11-1939. O fungo apresentava o mesmo aspecto descrito no saúveiro 14 F. Içá viva.

Saúveiro inicial 3 G. — Exame em 17-11-1939. Este saúveiro, conforme pode ser visto na fotomicrografia (Estampa 12, fig. *A*), já apresentava a porção de fungo com filamentos micelianos bem desenvolvidos. O tamanho do fungo era de 1,7 mm., medida tirada no maior diâmetro. Após a fotomicrografia a içá foi recolocada junto ao fungo e ao ovo (o primeiro posto) sobre o fundo da própria panela recortada do bloco de terra e coberta com uma pequena campánula de vidro. A terra foi humedecida com algumas gotas de água distilada.

Em 18-11-1939, às 9½ horas a içá havia posto mais 7 ovos e separado o fungo em duas pequenas porções. Os ovos agrupados repousavam na terra e as duas porções de fungo, um tanto afastadas do grupo de ovos, estavam colocadas separadamente em duas ligeiras excavações.

Em 20-11-1939, a içá havia posto mais 22 ovos (total 30) e o fungo estava dividido em 4 porções, sendo 3 menores e uma bem maior, já com filamentos micelianos bem desenvolvidos e visiveis com pequeno aumento. Em 21-11-1939, encontramos 42 ovos e 5 porções de fungo, todas agrupadas; e entre algumas já se notava um entrelaçamento do

micelio. Em 23-11-1939, havia 46 ovos; o fungo, porem, não apresentava o mesmo aspecto do dia anterior, notando-se um escurecimento em sua coloração. Notamos excesso de humidade. Em 24-11-1939, foram contados 54 ovos; o fungo estava misturado com a terra. Diminuimos a humidade. Em 25-11-1939 e nos dias seguintes o fungo ficou completamente inutilizado, até desaparecer no meio da terra.

Saúveiro inicial 6 C. — Exame em 18-11-1939. Foram contados neste saúveiro 12 ovos agrupados e 3 porções de fungo de pouco mais de 1 mm. de diâmetro, sendo 2 separadas dos ovos e uma encostada a eles. Após a fotomicrografia, a içá com os ovos e o fungo foi posta numa "câmara de tijolo" (vide descrição desta no capítulo seguinte) forrada com papel de filtro, preto. Em 20-11-1939 foram contados 30 ovos e ainda as 3 porções de fungo, que foram arrumadas pela içá na mesma posição em que tinham sido encontradas na ocasião do primeiro exame. Em 21-11-1939 contamos 32 ovos e 5 porções de fungo, todas mais ou menos agrupadas. Em 23-11-1939 havia 46 ovos e 10 porções de fungo, quasi todas completamente reunidas. Notamos entre os filamentos micelianos fios pretos, que verificamos pertencerem ao papel de filtro, preto. Esses fios pretos haviam sido retirados do papel pela içá e colocados sobre o fungo. Foram sacrificados, para medição, 20 ovos dos 46 existentes. Em 24-11-1939 foram contados 36 ovos, todos agrupados, e várias porções de fungo, todas com filamentos miceliano bem desenvolvido. Em 25-11-1939, foram contados 31 ovos (menos 5 do que no dia anterior) e verificamos a presença de ácaros. Em 26-11-1939, encontramos a maioria dos ovos murchos e numerosos ácaros. Surpreendemos alguns "chupando" ovos. Percebendo a presença de ácaros, a içá torna-se muito agitada e com as antenas tateia toda a câmara. Conseguindo localizar algum dos ácaros, tenta com golpes repentinos das mandibulas esmagá-los, conseguindo-o algumas vezes. Outras vezes, na ânsia de matar os inimigos, a içá faz uma verdadeira desordem na câmara, espalhando ovos e fungo. Em geral, como pudemos observar, um saúveiro inicial, em laboratório, quando invadido por ácaros, entra rapidamente em decadencia, até perecer. Isso se explica porque nessas ocasiões a içá deixa de adubar e de tratar do fungo, que acaba por desaparecer.

Saúveiro inicial 19 A. — Exame em 22-11-1939. Neste saúveiro não havia vestígios de fungo. Somente foram encontrados a içá e 60 ovos, todos reunidos.

Saúveiro inicial 19. — Exame em 23-11-1939. Encontramos 44 ovos e 6 porções de fungo bem desenvolvidas. Após a fotomicrografia, a içá, os ovos e o fungo foram postos em "câmara de ti-

jolo". Em 24-11-1939, somente encontramos 31 ovos, separados em 2 grupos, um deles entre 2 ou 3 porções de fungo e outro afastado do fungo. Notamos vários ácaros e alguns ovos murchos. Em 25-11-1939 o número de ovos estava reduzido a 20 e notava-se uma grande desordem na câmara. Este saúveiro entrou em decadência rapidamente até o desaparecimento completo do fungo.

Saúveiro inicial 19 B. — Exame em 24-11-1939. Os 50 ovos contados estavam todos agrupados sobre várias porções de fungo. Estas já formavam quasi que um único grupo, porquanto todas as porções estavam ligadas uma às outras por filamentos micelianos. Sôbre o fungo, ao lado dos ovos, notamos uma gota de líquido fecal.

Saúveiro inicial 1 F. — Exame em 25-11-1939. A içá foi encontrada morta. Notamos alguns ovos e o fungo completamente tomados por um outro fungo branco.

Saúveiro inicial 6 A. — Exame em 28-11-1939. Encontramos a içá e 73 ovos todos colocados sobre várias porções de fungo completamente ligadas entre si, formando uma "placa" circular de 7 mm. de diâmetro.

Saúveiro inicial 3 I. — Exame em 30-11-1939. Neste saúveiro, alem da içá, foram contados 108 ovos, na maior parte reunidos em uma ligeira depressão da parte central do fungo, que formava uma massa compacta.

Saúveiro inicial 7 C. — Exame em 11-12-1939. Foram contados 147 ovos e mais 41 larvas recemnascidas. O aparecimento das primeiras larvas deu-se, portanto, após 30 dias a contar da penetração da içá na terra e 25 dias a contar do primeiro ovo. Neste saúveiro a população, ovos e larvas, estava na sua maioria sobre a terra, afastada da "placa" de fungo.

Após a fotomicrografia o saúveiro foi colocado em uma "câmara de tijolo" com o próprio fundo da panela inicial, afim de não se tocar nas larvas nem nos ovos. Passadas cerca de 2 horas a içá recolocou a população sobre a "placa" de fungo, sendo tudo novamente fotomicrografado. Em observações posteriores, em outros saúveiros iniciais, em "câmara de tijolo" verificamos que esse fenômeno de "deslocamento" da população se dá repetidas vezes.

Saúveiro inicial 10 C. — Exame em 21-12-1939. Das 50 larvas contadas, algumas já se mostravam mais desenvolvidas, medindo 2,8 mm. (as medidas foram tomadas na posição natural das larvas, isto é, curvadas).

Saúveiro inicial 12 C. — Exame em 23-12-1939. A "placa" de fungo já era bem espessa, excavada na parte central onde se achava agrupada a população.

Saúveiro inicial 5 A. — Exame em 2-1-1940. Alem das larvas e de ovos foram notadas as primeiras pupas, que pertencem à casta de tamanho acima das menores. O tempo necessário para o aparecimento das primeiras pupas foi, a contar da penetração da içá na terra, de 52 dias.

Saúveiro inicial 24 I. — Exame em 12-1-1940. Mais uma vez encontramos a população sobre a terra, afastada da "placa" de fungo. Tambem verificamos a presença da primeira formiga adulta, pertencente à casta acima das menores.

O ciclo completo de ovo à adulto levou nesta série de saúveiros 62 dias, assim distribuidos:

| | |
|---|---|
| Periodo de preoviposição . . . . . | 5 dias |
| Periodo de incubação . . . . . | 25 dias |
| Periodo larval . . . . . | 22 dias |
| Periodo pupal . . . . . | 10 dias |

Os adultos, que obedeceram a esses períodos, são as primeiras operárias que aparecem no saúveiro, isto é, as pertencentes à casta acima das menores.

## IV — MÉTODO DE TRABALHO DE LABORATÓRIO

No decorrer das observações acima descritas, várias tentativas foram feitas para acertar uma técnica que permitisse que os saúveiros iniciais retirados do sólo continuassem seu desenvolvimento em condições artificiais e sob as nossas vistas.

Após numerosas tentativas, empregamos definitivamente "câmaras" artificiais, feitas de tijolos e cuja descrição daremos mais adiante.

Estas "câmaras de tijolo" permitiram-nos acompanhar o desenvolvimento dos saúveiros até à presente data, isto é, durante 28 meses, e tudo nos faz acreditar que poderemos continuar a mantê-los durante muito tempo em observação, porquanto a criação se processa da maneira mais satisfatória possivel, com aumento de população e "jardins de cogumelo". Passados os primeiros meses de vida do saúveiro, período em que os insucessos são frequentes, o saúveiro é facilmente criado tambem em vasilhame de vidro, podendo aí alcançar dimensões notáveis. Saúveiros já bastante desenvolvidos, retirados do sólo com a rainha, estão tambem sendo criados em nosso laboratório ha mais de 4 anos, com sucesso.

"Câmara de tijolo" — Para as nossas observações de laboratório, construimos as "câmaras de tijolo" (fig. 1 (texto). Estampa 22, fig. *C*) aproveitando parte de tijolos "vasados" usados nas construções de paredes leves. Naturalmente tambem podem ser especialmente fabricadas, com mais perfeição e de tamanhos diversos, em olarias.

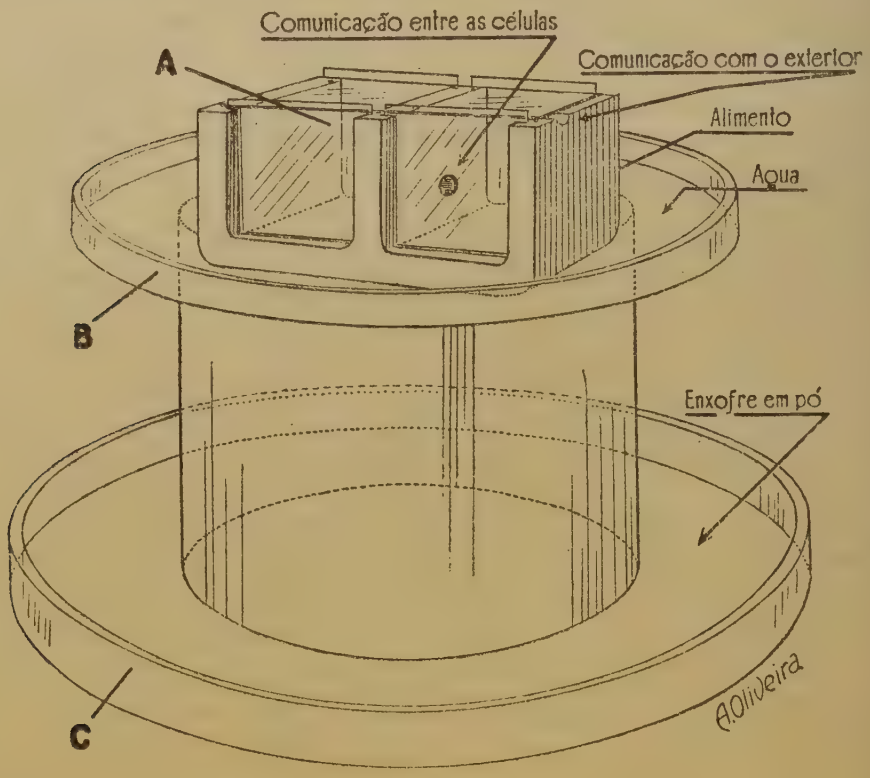



Fig. 1 — Conjunto da "camara de tijolo". A — camara de tijolo com 2 celulas. B — Placa de vidro onde é colocada a água e o alimento. C — Placa de vidro onde é colocado o enxofre em pó para evitar a presença de ácaros, sugadores de ovos de Atta, dentro das celulas.

Entretanto os tijolos "vasados" prestam-se bem para tal fim, requerendo àpenas certa habilidade e bastante paciência para serrá-los e fazer os encaixes necessários para os vidros laterais. O tipo mais comum e que melhor resultado nos deu, permitindo-nos acompanhar em todos os pormenores a atividade da jovem rainha e da recemfundada colónia, é o que aparece na fig. 1 A. Como aí se vê, cada uma das duas células da câmara tem, alem do fundo, dois lados de tijolo; os outros dois lados e a tampa, de vidro. Isso nos permitiu ter à vista todo o interior da câmara, com a sua população. Os vidros laterais correm dentro de encaixes excavados ao longo das margens das paredes. A

tampa de vidro póde ser apoiada e correr entre os excedentes dos vidros laterais. O tamanho de cada câmara, com duas células, é de cerca de 11 cms. de largura, por 5 cms. de fundo e por 5 cms. de altura. Cada célula tem pois cerca de 137 cms$^3$, espaço que corresponde mais ou menos ao da panela inicial do saúveiro depois de alargada, e que é ocupada pelas formigas até o 4.º ou 6.º mês a contar da fundação do ninho. Na natureza, depois deste praso, as formigas abrem a segunda panela, de dimensões bem maiores, a cerca de um metro de profundidade.

Em se tratando de colónias novas, de população pouco numerosa, pode-se manter em laboratório o saúveiro inicial completamente isolado do exterior, colocando-se então folhas de plantas numa das células e deixando a outra para a rainha, o fungo e a população (estampa 22, fig. *C*). Com o aumento da população a célula chega a ficar completamente tomada pela "esponja" e então as folhas podem ser postas fora da célula, deixando-se a que servira de armazem à disposição das formigas, que a ocupam, iniciando a construção de novo "jardim de cogumelo".

À medida que o saúveiro vai crescendo, novas células são postas ao lado das que já estão cheias, e sempre verificamos que as formigas as ocupam depois de alguns dias de cuidadosa inspeção feita por elevado número de operárias de todas as castas existentes na ocasião, até as maiores que a colónia já possue. Essa inspeção é sempre seguida de uma minuciosa limpeza, executada pelas formigas. A limpeza, que parece antes verdadeira desinfeção, é feita pelas formigas que "lambem", milímetro por milímetro, toda a câmara, principalmente na sua base. As formigas, e em maior número as pertencentes à casta das menores, parecem permanecer vários minutos imoveis no mesmo lugar, mas, observadas através de uma binocular, vê-se nitidamente que elas estão constantemente lambendo o chão e avançando por fração de milímetro. Muitas vezes, no mesmo ponto se aglomeram várias dezenas de formigas, dando a impressão de alí estarem simplesmente reunidas e imoveis. Entretanto estão todas ocupadas na mesma tarefa de limpeza da parte basal da célula que vai receber o fungo.

Para manter um grau de humidade mais ou menos constante, a câmara é colocada dentro de um recipiente de vidro (fig. 1B) (tampa de placa Petri) em que se põe um pouco de água distilada, de maneira que o fundo da câmara permaneça constantemente húmido mas nunca encharcado, porquanto a água é absorvida pelas paredes da célula, evaporando-se em seguida. Dá-se, portanto, uma passagem de humidade de baixo para cima em toda a célula. A temperatura ne-

cessária para o bom desenvolvimento do fungo é no mínimo de 20° C. E' portanto bôa a temperatura ambiente do laboratório, praticamente durante todo o ano, com exceção de curtos períodos do inverno em que a temperatura interna, mesmo evitando-se o mais possivel a renovação do ar diretamente do exterior, desce abaixo de 20° C. Somente nestas ocasiões mantivemos no laboratório uma estufa para elevar a temperatura a 22° C. ou mais. Naturalmente nos dias muito quentes, em que a temperatura interna ultrapassa 33° C., o provimento de água distilada deve ser feito 2 ou 3 vezes por dia.

O alimento para o fungo das formigas (folhas e pétalas de roseiras, folhas de laranjeiras, casca de laranja, grãos de milho, migalhas de pão ou de biscoutos etc.) é colocado, para saúveiros já um pouco maiores, fora das células, em um recipiente que o isola da água, ou na própria tampa da placa Petri que sustem a câmara, tendo-se antes o cuidado de dar à "placa" ligeira inclinação de maneira que a água se acumule num dos lados, impedindo-se o contato entre o alimento e a água.

Conforme já foi descrito no capítulo "notas à tabela n.° 2", foi preciso isolar todo esse conjunto ("câmara de tijolo" e tampa de vidro com água) por meio de uma camada de enxôfre em pó, destinada a evitar a penetração nas células dos pequenos ácaros sugadores de ovos (Fig. 1-C.). Este cuidado é indispensavel quando se quer manter em câmaras artificiais, saúveiros iniciais na sua primeira fase, isto é, ainda não povoados de formigas adultas. Os saúveiros que continham somente a rainha, fungo, ovos e larvas, não conseguiam ir avante devido sempre à presença de tais á c a r o s . Desde que no saúveiro já existam algumas formigas adultas, mesmo em número reduzido (3 ou 4) os ácaros são todos destruidos por elas, enquanto a rainha, ao contrário do que acontece quando está só, cuida unicamente do fungo e das formas jovens, e tambem dos ovos. Uma ou outra vez a rainha corre em auxílio das formiguinhas na luta contra os ácaros, mas tão somente para levantar ou deslocar toda a porção de fungo, permitindo que as operárias possam alcançar e destruir os que se tenham escondido debaixo do "prato de fungo".

Focalizando o interior da "câmara de tijolo", com uma binocular adatada a uma estativa que permita movimentá-la nos sentidos vertical e horizontal, pode-se acompanhar em todos os pormenores a atividade da pequena colónia através dos vidros laterais ou superior. Esta câmara permitiu-nos ainda cinemicrografar, num film de longa metragem, a atividade da colónia, substituindo a binocular por uma

máquina cinematográfica adaptada em Banco Zeiss objetiva Planar 45 mm. Zeiss. Esse trabalho esteve a cargo do Sr. A. Federman, Chefe da Secção de Fotografia do Instituto Biológico.

## V — ATIVIDADES DO SAÚVEIRO INICIAL

A atividade de um saúveiro inicial pode ser dividida em duas partes bem distintas. A primeira é marcada exclusivamente pela extraordinária atividade da "rainha". Esta fase dura cerca de 75 dias. A segunda carateriza-se por grande redução da atividade da "rainha" e pelo início do trabalho das primeiras operárias.

Como já dissemos acima, o fungo alcança um tamanho de cerca 2 cms. de diâmetro somente 30 dias após a penetração da içá na terra e então está todo ligado, formando um pequeno "prato" circular, em cuja depressão central se acolhe a prole.

A atividade da içá nesses primeiros 75 dias, aproximadamente, é dividida entre:

a) cuidados com a porção inicial do fungo (adubação e separação)
b) limpeza das antenas, patas e etc.
c) alimentação própria e da colónia
d) desova
e) cuidados gerais com a prole.

As quatro primeiras atividades da içá são alternadas e delas trataremos separadamente, para maior facilidade e clareza da exposição.

a) Cuidados com a porção inicial do fungo (adubação e separação). — A porção do fungo regurgitada pela içá é constantemente "lambida" e revolvida entre as partes bucais dela. De vez em quando é levada, segura pelas mandíbulas, até à extremidade abdominal para receber uma gota de líquido fecal, de côr acastanhada e bastante fluida. Essas gotas são em geral pequenas, menores do que o fungo, que nessa ocasião mede pouco mais de 1 mm. e são por ele absorvidas. Às vezes a içá expele uma gota maior, que o fungo não pode absorver toda, e, nesse caso a içá lambe o excedente. Várias vezes observamos que toda a porção de fungo era engulida pela içá, desaparecendo completamente da nossa vista, para ser logo mais regurgitada.

O fungo aumenta rapidamente de volume e já no 4.º ou 5.º dia se notam filamentos micelianos, no começo em número reduzido, e, em seguida, mais numerosos, chegando a cobrir toda a periferia do fungo, de maneira a assumir este o aspecto de um minúsculo "ouriço".

Nessa ocasião a "esponja" de fungo é dividida em 2-3 ou mais porções, e cada uma delas é tratada separadamente pela içá, da maneira acima descrita.

A içá lambe o fungo, exercendo certa pressão sobre ele com o aparelho bucal, de maneira que os filamentos micelianos são comprimidos e repuxados. Às vezes alguns desses filamentos se destacam da massa e são ingeridos pela içá. Tivemos a impressão, raras vezes porem, de que tais filamentos eram logo mais regurgitados sobre o fungo, semelhantemente ao que acima foi relatado a respeito de toda porção de fungo no seu segundo dia de desenvolvimento.

b) Limpeza das antenas, patas etc. — Uma das atividades com que a içá dispende a maior parte de seu tempo durante os primeiros 3 meses, mais ou menos, de sua atividade como "rainha da nova colónia", consiste na limpeza rigorosa das várias partes do seu corpo, isto é, antenas, tarsos, tibias e femures, parte ventral do abdomen, enfim de todas as partes que ela pode alcançar com o aparelho bucal.

As antenas e os tarsos (principalmente os anteriores) são limpos mais a miude, sendo passados entre as peças bucais e humedecidos. O mesmo ela faz com os tarsos do segundo e mesmo do terceiro par. As outras partes do corpo ela as limpa esfregando-as repetidas vezes com suas partes bucais.

Quando parada, a içá apoia-se firmemente sobre o segundo e terceiro pares de patas; o par anterior está quasi sempre livre e geralmente a 1-2 mm. de altura do chão. As patas do primeiro par são justamente as que, com as extremidades das antenas, entram mais em contato com o fungo e a prole.

Durante a sua "toilete", que se prolonga ininterruptamente até 20 ou mais minutos, a içá faz movimentos complicados e toma atitudes às vezes por assim dizer ridículas, principalmente quando, num quasi milagre de equilíbrio, se mantem apoiada sobre duas patas somente (de um mesmo lado) e leva os tarsos das outras até à cavidade bucal para a limpeza. Às vezes, perdendo o equilíbrio, ela tomba. Nesse caso reinicía a "toilete" que, então é muito mais demorada do que costuma ser normalmente.

E' comum observarem-se içás com manchas de barro, na parede dorsal da cabeça, do torax ou do abdomen. A região dorsal do torax é frequentemente a mais suja, por ser a parte mais saliente do corpo da içá e a que mais entra em contato com a terra, por ocasião da perfuração inicial. A içá não pode alcançar com as partes bucais todas as regiões do corpo e não pode portanto, limpá-lo totalmente.

Frequentemente aparece e alastra-se por sobre o corpo da içá um "bolor" de côr acinzentada. Ela passa então a maior parte do tempo lambendo as zonas atingidas, numa luta continua contra esse "bolor", que todavia permanece na região centro-dorsal do torax, tomando o aspecto de u'a mancha. Essa mancha, perfeitamente delimitada dentro de um perimetro que marca nitidamente o alcance máximo das partes bucais, empresta à içá um aspecto característico e extranho.

As primeiras formigas que aparecem no saúveiro inicial completam a limpeza da içá. Observamos a içá imovel, e quatro, cinco ou mais formigas sobre seu corpo, lambendo-o cuidadosamente durante dezenas de minutos seguidos. Detem-se elas caprichosamente na limpeza das articulações, como p. e. das mandíbulas, antenas, patas etc.

O trabalho de limpeza é constante e, passados alguns dias, a içá apresenta o tegumento perfeitamente limpo, com um brilho que lembra a presença de verniz. No período em que são poucas as formigas, no saúveiro novo, a içá tambem toma parte na própria "toilete"; com o aumento de número das formigas esse trabalho é atribuido exclusivamente às auxiliares.

c) Alimentação própria e da colónia. — Nos primeiros 90 dias, mais ou menos, a içá alimenta-se e alimenta a prole jovem, com "ovos de alimentação", os quais diferem completamente dos ovos propriamente ditos (estampa 22, fig. *D*). As primeiras operárias que povôam o saúveiro inicial, tambem se alimentam de "ovos de alimentação" durante certo tempo.

Sobre tais "ovos de alimentação" escrevi um artigo (AUTUORI 1940) no qual pela primeira vez foi descrita essa observação.

O período de cerca de 90 dias é o único em que, pelo que se sabe até ao presente, o alimento da colónia (içá, larvas e operárias), não é representado pelas hifas do cogumelo que as formigas cultivam *(Kohlrabi)*. De fato os "kohlrabi" somente aparecem após cerca de 90 dias a contar da regurgitação da "bolinha" de fungo pela içá, na panela inicial, coincidindo seu aparecimento com o início da paralização da postura dos "ovos de alimentação" havendo um período que dura cerca de 15 dias, em que a alimentação é mista. Vimos operárias ingerirem ávidamente um "ovo de alimentação" e logo em seguida fazer o mesmo com "kohlrabi". Tambem observamos que enquanto uma larva estava sendo alimentada por uma operária com um "ovo de alimentação", segunda operária aparecia trazendo "kohlrabi" e tomava o lugar da primeira, fazendo com que esta retirasse o restante do "ovo de alimentação" da boca da larva. A primeira operária, ou ingeria o resto do "ovo de alimentação" ou oferecia-o a outra larva, ao passo

que a segunda operária continuava a alimentação da larva com "kohlrabi".

O número de "ovos de alimentação" que uma içá pode pôr durante os 90 dias, aproximadamente, é muito elevado, bastando para isso considerar-se que em 15 horas uma içá poz 96 "ovos de alimentação". Trata-se, pois, de uma reserva enorme, de que a içá dispõe, para garantir a sua sobrevivência e a da prole, até o aparecimento do alimento definitivo da colónia, que é o "kohlrabi".

A maneira pela qual o alimento ("ovos de alimentação" e "kohlrabi") é dado às larvas e ingerido pela içá e pelas operárias é interessante. Com relação às larvas, o fato foi muito bem descrito por HUBER, 1905. Este autor refere-se entretanto a "ovos que dão larvas" e não viu os dois tipos de ovos. Os dois tamanhos de ovos foram vistos só muito mais tarde por EIDMANN, 1935. Verifiquei pela primeira vez, (1940) o fim a que se destinavam os tais ovos que EIDMANN chamou de "ovos grandes" e que passei a chamar de "ovos de alimentação". Ainda não foi possivel completar um estudo sobre a proveniência e constituição desses "ovos de alimentação", do ponto de vista biológico e anatômico.

Devido à sua imobilidade, as larvas só se alimentam quando o alimento lhes é oferecido pela "rainha" ou pelas operárias. Estas retiram os "ovos de alimentação" da extremidade abdominal da "rainha" e, ou os ingerem totalmente, ou então levam-nos às larvas. Enquanto estas os sugam, a formiga — que na maioria das vezes mantem o "ovo de alimentação" sobre a cabeça da larva — vai tambem ingerindo uma parte dele, de maneira que o ovo é sugado pela larva e pela operária ao mesmo tempo.

Em se tratando de "kohlrabi", a operária retira-o do fungo e inicía uma manobra com ele por meio das mandíbulas e das patas do primeiro par. O "kohlrabi" é revolvido entre as patas e mandíbulas até ficar reduzido a uma massa húmida, granulosa, que vai sendo, aos poucos, sugada pela operária. Da mesma maneira age a formiga quando o "kohlrabi" se destina às larvas. Ela o reduz a uma massa e depois o põe em contato com as partes bucais da larva.

A "rainha" ingere os "ovos de alimentação", retirando-os com as mandíbulas da sua própria extremidade anal, quando ainda não estão presentes operárias. Quando o saúveiro inicial já conta com algumas operárias, às vezes a içá não se dá ao trabalho de retirar o ovo, seja de alimentação, seja de criação, da extremidade anal, porquanto as formigas se encarregam, na maioria das vezes, de o fazer. Em se tratando de "ovos de alimentação", às vezes elas os oferecem à içá.

d) Desova. — A desova da içá nos primeiros 70-80 dias a contar da fundação do saúveiro, durante os quais ainda não existem operárias, dá-se da seguinte maneira: a içá retira os ovos, como já dissemos, da sua extremidade anal, por meio das mandíbulas e do primeiro par de patas. À medida que o ovo vai aparecendo, a içá curva-se, sustentando-se sobre os dois pares posteriores de patas, e com as antenas tateia-o primeiramente. Em seguida, com as mandíbulas e o primeiro par de patas, alcança o ovo, que já nessa ocasião está quasi totalmente exposto (estampa 21). Em se tratando de ovo de criação, ela o retira rápida e facilmente, segurando-o com as pontas das mandíbulas e sem grandes cuidados o coloca sobre qualquer parte do fungo. Com "ovos de alimentação" ela parece encontrar certa dificuldade em retirá-lo; isso se explica devido à consistência extremamente mole desse "ovo". Com a ajuda das antenas e dos tarsos do primeiro par de patas, a içá trata de segurar o "ovo de alimentação" entre as mandíbulas, que se apresentam um tanto afastadas uma da outra e em planos diferentes, de maneira que uma das mandíbulas sustenta por baixo, afim de evitar que com o peso do líquido a finissima película do "ovo de alimentação" se rompa, dando vasão ao líquido. Às vezes isso acontece, e nesse caso a içá ingere o conteúdo do ovo rapidamente, mesmo em posição curvada.

e) Cuidados gerais com a prole. — As larvas, prepupas e pupas são alvo constante dos maiores cuidados por parte da içá e das operárias.

Durante o período que precede o aparecimento das operárias suas auxiliares, a içá dispende bôa parte do tempo cuidando das formas jovens, "lambendo-as" e alimentando-as alternadamente. Às vezes toda a população jovem é revolvida, sendo retirada de um ponto e colocada em outro. Os ovos, somente na iminencia da eclosão é que são tambem "lambidos" e livrados dos filamentos micelianos que na maioria das vezes os envolvem em parte.

E' muito interessante observar as manobras a que são sujeitas as pupas prontas para se transformarem em adultos, já apresentando, portanto, a coloração escurecida. A içá ou as operárias submetem-nas a uma verdadeira "ginástica". Os membros maiores, antenas e patas, são "lambidos" e alternadamente forçados a flexões, várias vezes seguidas. Para isso a içá ou as operárias seguram-nos entre as mandíbulas e iniciam um movimento de vai-e-vem. A película que envolve as pupas é retirada e ingerida pela içá, quando sosinha, ou então pelas operárias, quando já existem; mesmo depois que a nova operária já está livre da película pupal, a "ginástica" continua, até que a formiga

comece a se movimentar espontaneamente e inicie suas atividades, que muitas vezes consistem em repetir o mesmo trabalho com uma outra pupa, que esteja prestes a se transformar em adulta.

## VI — VÁRIAS

A içá, como tambem as formigas pertencentes a qualquer casta, agem como se fossem cegas. Várias experiências feitas nos levaram a essa convicção.

Todas as vezes que a içá ou as operárias encostam as mandíbulas em qualquer parte, seja sobre o fungo ou fora dele, para apanhar ovos, larvas etc., fazem-no, sempre, tateando primeiramente com a extremidade das antenas. Quando a prole está toda espalhada pela câmara p. e. devido à agitação da içá causada pela presença de ácaros, esta só consegue localizá-la, para recolocá-la sobre o fungo, por meio das antenas.

Tambem as operárias e a içá agem em relação à luz como se fossem cegas. Fortes lâmpadas dirigidas para a colónia em observação, acesas repentinamente, não são aparentemente percebidas pelas formigas, porquanto mesmo observadas nessa ocasião através da binocular, nunca fizeram nenhum movimento que acusasse a percepção da luz fortíssima.

Isso tambem aconteceu sempre, durante a filmagem, em que foram usadas lâmpadas poderosas. Entretanto, basta que a temperatura seja aumentada pela ação continuada da luz, para que alvoroço geral se note na população do saúveiro inicial.

Tambem pancadas sobre a "câmara de tijolo", que não a façam trepidar, passam despercebidas. São as formigas, e principalmente as içás, muito sensiveis ao deslocamento do ar, por mínimo que seja.

Repouso observado em operárias de saúva. — Durante repetidas e prolongadas observações, sempre feitas através de binocular, focalizando o interior de uma "câmara de tijolo", tinhamos nossa atenção frequentemente despertada pelo seguinte fato: algumas das formigas adultas permaneciam, às vezes, durante 20-40 minutos imoveis e um tanto encolhidas. Não se notava mobilidade, senão raros movimentos lentos de uma das antenas.

As outras operárias em plena atividade passavam por sobre o corpo das que se achavam em "repouso", sem que elas dessem sinal de vida. Passado o período de descanso, as formigas movimentavam-se e reiniciavam seu trabalho normalmente.

Durante uma das observações, que durou 15 horas seguidas, tivemos ocasião de observar esse fato repetidas vezes, em várias for-

migas alternadamente. Durante a filmagem da atividade de um saúveiro novo, já com elevado número de operárias, tivemos oportunidade de filmar uma dessas formigas em "repouso".

Absorção de água pelas formigas. — No decorrer da filmagem notamos, nas paredes de vidro da "câmara de tijolo", condensação de água provocada pelo aumento de temperatura devido às fortes lâmpadas que eram empregadas. Os vidros tornavam-se embaçados pelo acumulo de numerosas goticulas de água, dificultando assim, a bôa visão do interior da "câmara de tijolo". Como não nos era possivel remover as goticulas de água sem provocar um alvoroço geral no saúveiro, por estarem as goticulas localizadas internamente, eramos obrigados a esperar até que os vidros se enxugassem novamente. As formigas, porem, vieram em nosso auxílio, absorvendo, uma por uma, as goticulas. Os vidros tornavam-se logo transparentes e podiamos continuar o trabalho de filmagem. No film vê-se claramente, várias vezes, tal cena das formigas a absorver água nas paredes dos vidros.

Extranhando a avidez com que as formigas absorviam água, passamos então a colocar perto dos saúveiros criados em laboratório, uma placa Petri, contendo água distilada. Verificamos durante vários dias seguidos, em certas ocasiões, principalmente nos dias bem quentes, um "carreiro" de formigas entre as "panelas" com "esponja" de fungo e o depósito de água. Chegando à placa, as formigas permaneciam durante alguns segundos com as partes bucais em contato com a superfície da água, para depois se retirarem, dando lugar a outras. Havia sempre, portanto, certo número de formigas aglomeradas lado a lado, circundando o bordo da placa Petri.

Passamos então a observar, através da binocular, uma das "esponjas" de fungo em "câmara de tijolo", que estava recebendo água transportada pelas formigas. Verificamos várias vezes o seguinte fato: chegando à câmara, a formiga subia pela "esponja" e depois de explorar vários pontos, permanecia parada e abria completamente as mandíbulas, forçando-as a uma posição quasi horizontal. Daí a alguns segundos notavamos o aparecimento de uma gota de líquido cristalino, extraordinariamente transparente e dando-nos a impressão de consistência um tanto melosa. Às vezes, antes que tal gota fosse absorvida pela "esponja", aparecia outra formiga e a ingeria. Uma das vezes pudemos acompanhar o trajeto dessa segunda formiga e verificamos que ela repetia exatamente o que a primeira formiga havia feito, regurgitando a gota do líquido em outra parte da "esponja".

Desejo exprimir aquí os meus agradecimentos ao Sr. Miguel Carvalho Leite, Preparador-instrutor deste Instituto, pela sua cooperação, dedicação e alto interesse sempre demonstrado durante todos os estudos realizados; aos Srs. A. Federman e B. Mazza, pelos trabalhos de foto e cinematografia; ao Sr. R. L. Araujo, por sugestões na revisão do manuscrito.

## CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE "SAÚVA"

(ATTA SPP. — HYMENOPTERA-FORMICIDAE)

II — THE INCIPIENT SAUVA-NEST.

(ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908)

*A b s t r a c t*

*In this contribution, the incipient sauva-nests, from the digging of the ground by the "Içá" (queen) untill the appearance of the first workers, in studied. The methods of field work are described.*

*Nests iniciated by the "Içás" (queens), in previously determined places, were dug out and opened daily in order to permit continuous observation of the various steps in the development of the colony. (See Table I and serial photographs).*

*The life-history o f t h e f i r s t w o r k e r s was found to be:*

| | |
|---|---|
| *Pre-oviposition period . . .* | *5 days* |
| *Incubation period . . . . .* | *22 days* |
| *Larval period . . . . . .* | *22 days* |
| *Pupal period . . . . . .* | *10 days* |

*The laboratory methods are also described. Artificial chambers, built out of bricks, permitted the observation of the incipient colonies through a binocular microscope.*

*The following subjects are also considered: care with the initial pellet of fungus, (manuring and division); cleaning of antennae, legs, etc.; feeding of the "Içá" and of the population; oviposition; general care with the immature forms; negative reaction to light; workers' rest and absorption of water by the ants studied.*

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

(Aumento das estampas n.os 12 a 20 = × 5.6)

### Estampa 12

Fig. *A* — Saúveiro inicial n.º 3 G. examinado e fotografado 5 dias após a penetração da "rainha" na terra. Nota-se a "bolinha" de fungo já apresentando filamentos micelianos desenvolvidos, e o primeiro ovo.

Fig. *B* — Saúveiro inicial n.º 6 C. examinado e fotografado 6 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se 3 porções de fungo todas com filamentos micelianos desenvolvidos e um grupo de 12 ovos.

Fig. *C* — Saúveiro inicial n.º 6 F. examinado e fotografado 9 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se alem de um grupo de ovos varias porções de fungo agrupadas e algumas já ligadas entre si pelos filamentos micelianos.

Fig. *D* — Saúveiro inicial n.º 19 B. examinado e fotografado 12 dias após a penetração da "rainha" na terra. As porções de fungo já estão bem agrupadas, formando um "prato" e os ovos se acham sobre o fungo. Nota-se uma gota de liquido fecal (adubo para o fungo) expelida pela "rainha".

### Estampa 13

Fig. *A* — Saúveiro inicial n.º 3 I. examinado e fotografado 18 dias após a penetração da "rainha" na terra.

Fig. *B* — Saúveiro inicial n.º 4 D. examinado e fotografado 22 dias após a penetração da "rainha" na terra.

Fig. *C* — Saúveiro inicial n.º 6 B. examinado e fotografado 23 dias após a penetração da "rainha" na terra.

Fig. *D* — Saúveiro inicial n.º 6 I. examinado e fotografado 25 dias após a penetração da "rainha" na terra.

### Estampa 14

Fig. *A* — Saúveiro inicial n.º 7 C. examinado e fotografado 31 dias após a penetração da "rainha" na terra. Nota-se que a maior parte da população (ovos e as primeiras larvas) está agrupada ao lado do "prato" de fungo.

Fig. *B* — O mesmo saúveiro (7 C.) fotografado no dia seguinte quando a "rainha" já havia recolocado sobre o "prato" de fungo toda a população.

### Estampa 15

Fig. *A* — Saúveiro inicial n.º 9 E. examinado e fotografado 36 dias após a penetração da "rainha" na terra.

Fig. *B* — Saúveiro inicial n.º 10 G. examinado e fotografado 41 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se, alem de ovos, larvas e prepupas bem desenvolvidas.

### Estampa 16

Saúveiro inicial n.º 3 H. examinado e fotografado 50 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se prepupas bem desenvolvidas e larvas pequenas.

Estampa 17

Saúveiro inicial n.º 5 A. examinado e fotografado 52 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se, alem dos ovos, larvas, prepupas e as primeiras pupas.

Estampa 18

Saúveiro inicial n.º 22 C. examinado e fotografado 55 dias após a penetração da "rainha" na terra".

Estampa 19

Saúveiro inicial 24 I. examinado e fotografado 62 dias após a penetração da "rainha" na terra. Notam-se pupas no maximo desenvolvimento. Neste saúveiro já havia a primeira formiga adulta que não aparece na fotografia.

Estampa 20

Saúveiro inicial 26 D. examinado e fotografado 72 dias após a penetração da "rainha" na terra. Neste saúveiro já havia 15 formigas adultas que não aparecem na fotografia.

(Fotomicrografias por A. Federman).

Estampa 21

Imagens de filme cinematográfico, ampliadas, mostrando uma "rainha" de *Atta sexdens rubropilosa*, numa "célula de tijolo", pondo um "ovo de alimentação".

Fig. *A* — O "ovo" aparece na extremidade anal da "rainha", que se acha na posição caracteristica de postura, no momento desta segura-lo entre as mandibulas.

Fig. *B* — As mandibulas e a extremidade das antenas da "rainha" estão encostadas ao "ovo".

Fig. *C* — O "ovo" já está entre as mandibulas da "rainha".

Figs. *D* e *G* — A "rainha" procura uma larva a quem vai dar o "ovo" que se vê entre as mandibulas.

Fig. *H* — A "rainha" coloca o "ovo" sobre a cabeça de uma larva.

(Cinematografado por B. Mazza)

Estampa 22

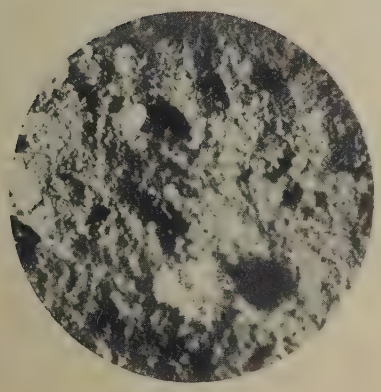
Fig. *A* — Bloco de terra isolado no campo experimental, pronto para ser arrancado e transportado para o laboratório.

Fig. *B* — Bloco de terra aberto mostrando o canal, a panela inicial com a "esponja" e a "rainha" (a "rainha" foi morta, preparada e recolocada sobre a "esponja" para facilitar o trabalho fotográfico).

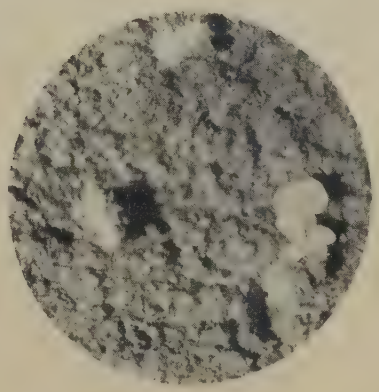
Fig. *C* — "Câmara de tijolo" com saúveiro inicial numa das células e folhas de roseira, para o fungo, na outra.

Fig. *D* — "Ovo de criação" (o menor) e "ovo de alimentação", ambos mergulhados em agua. (Seg. Autuori, 1940).

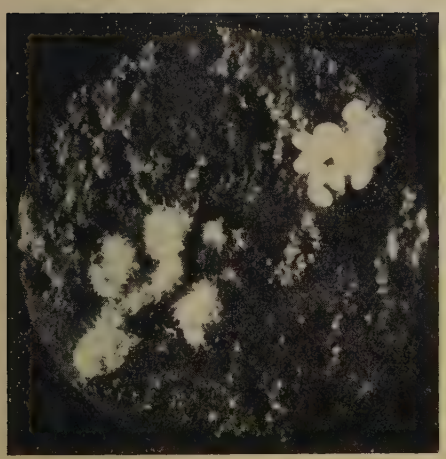
(Micro e fotografias por A. Federman)



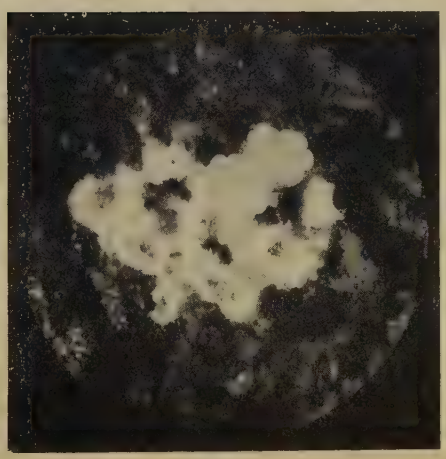
*A*



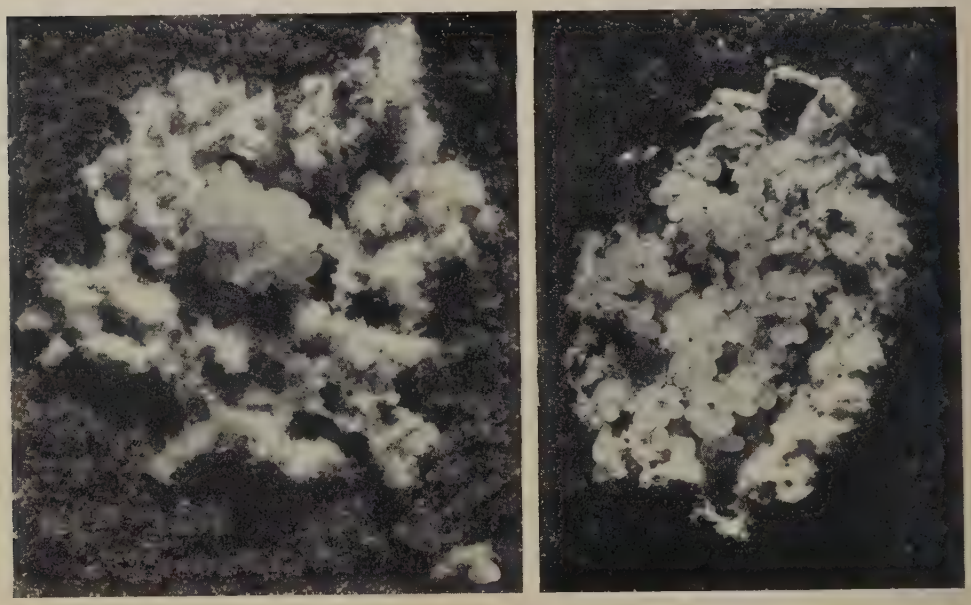
*B*



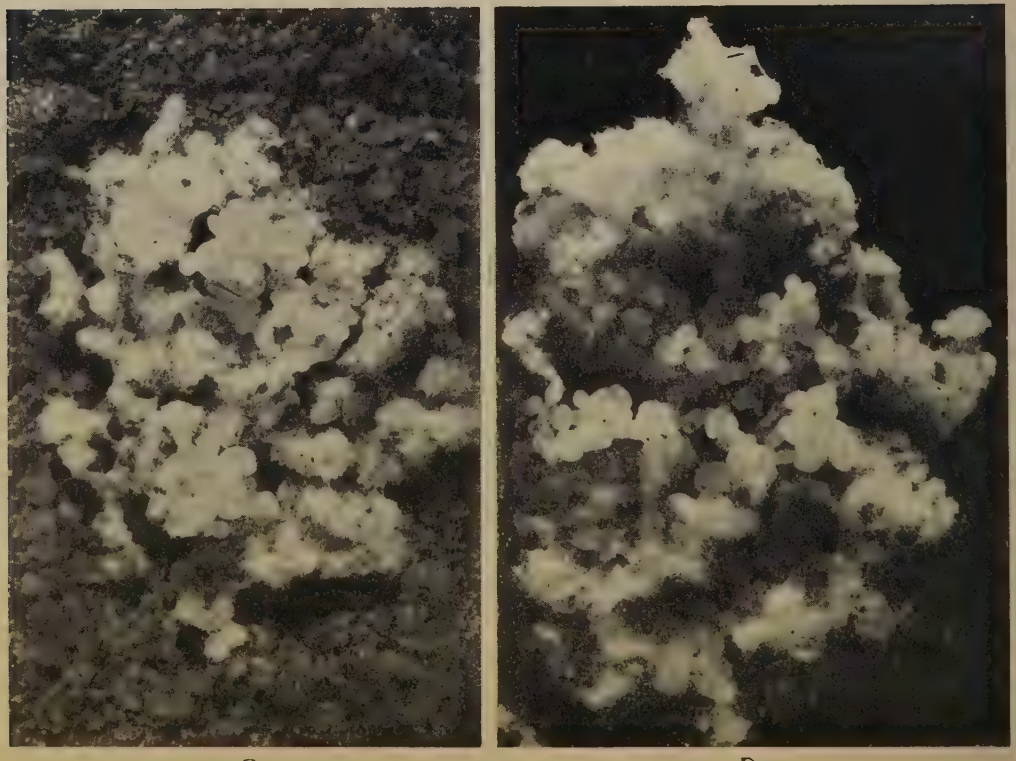
*C*



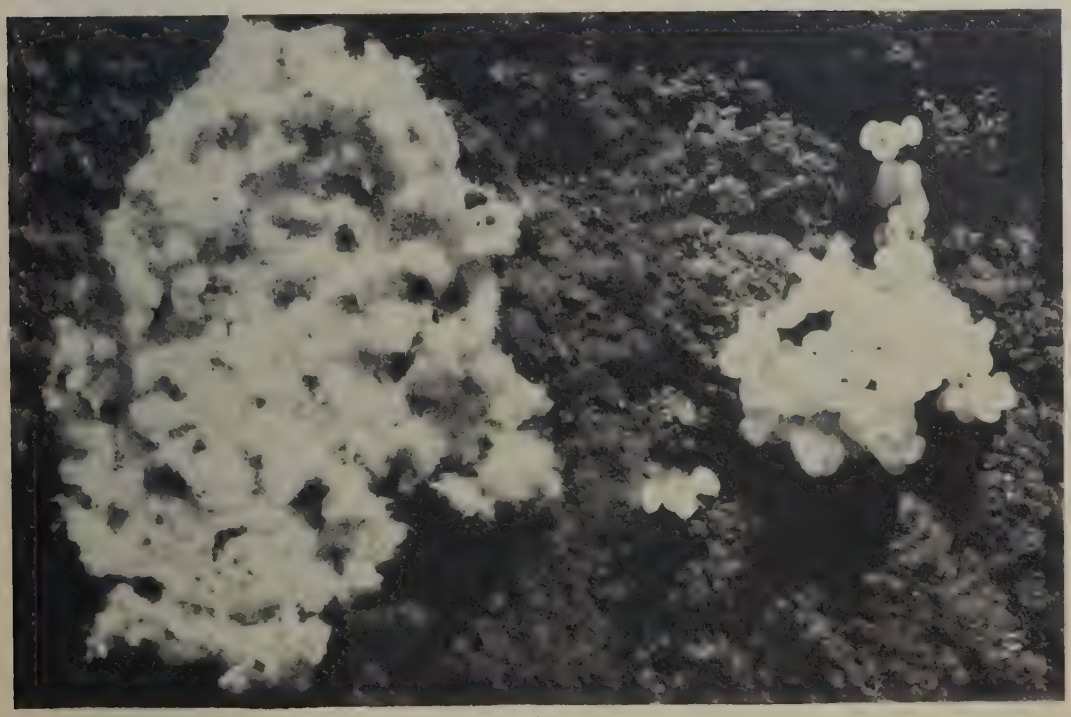
*D*



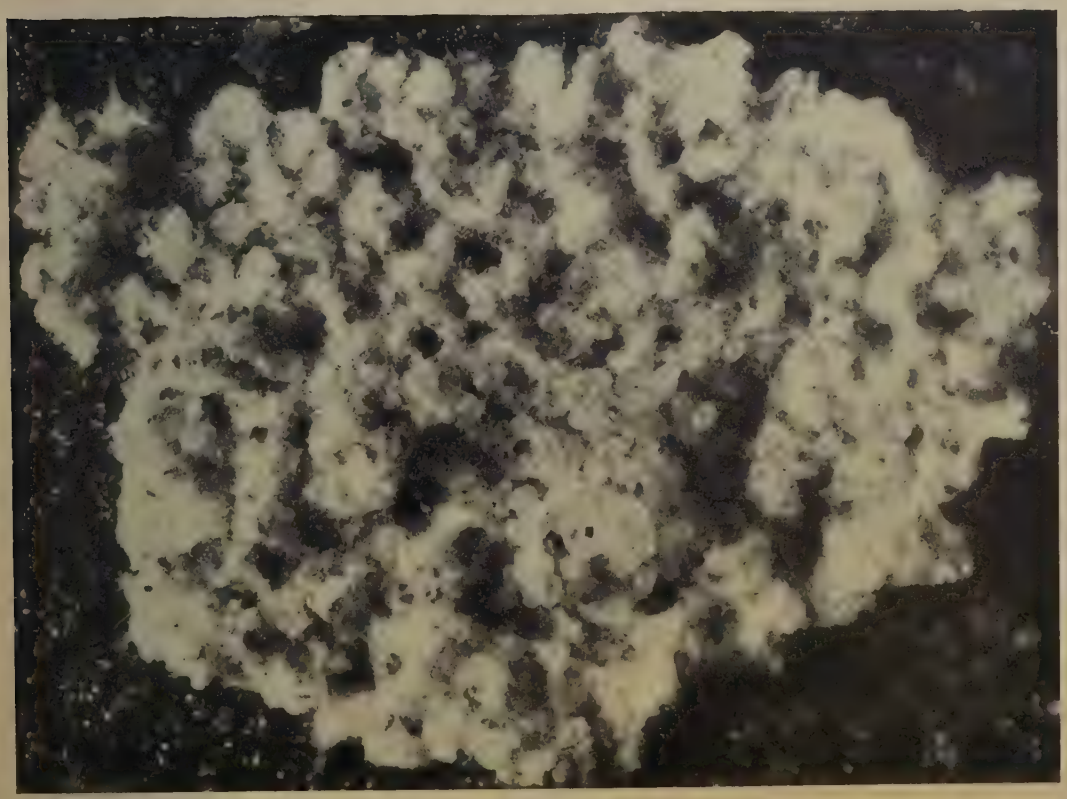
*A* *B*



*C* *D*

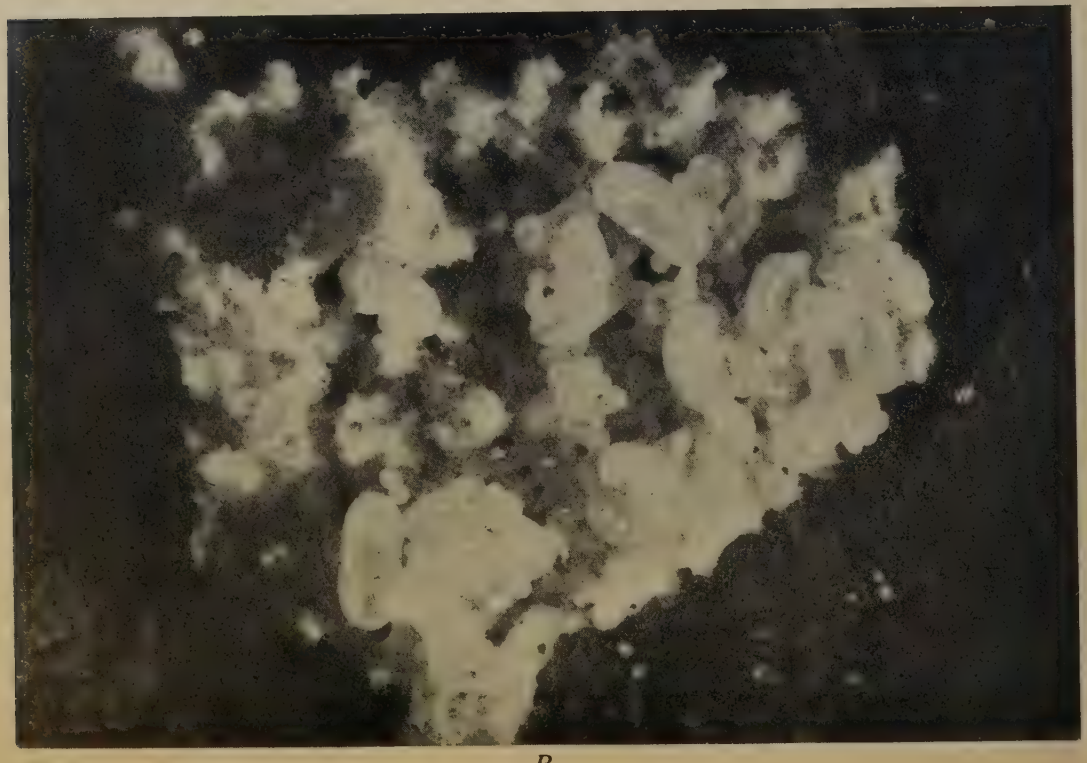


*A*

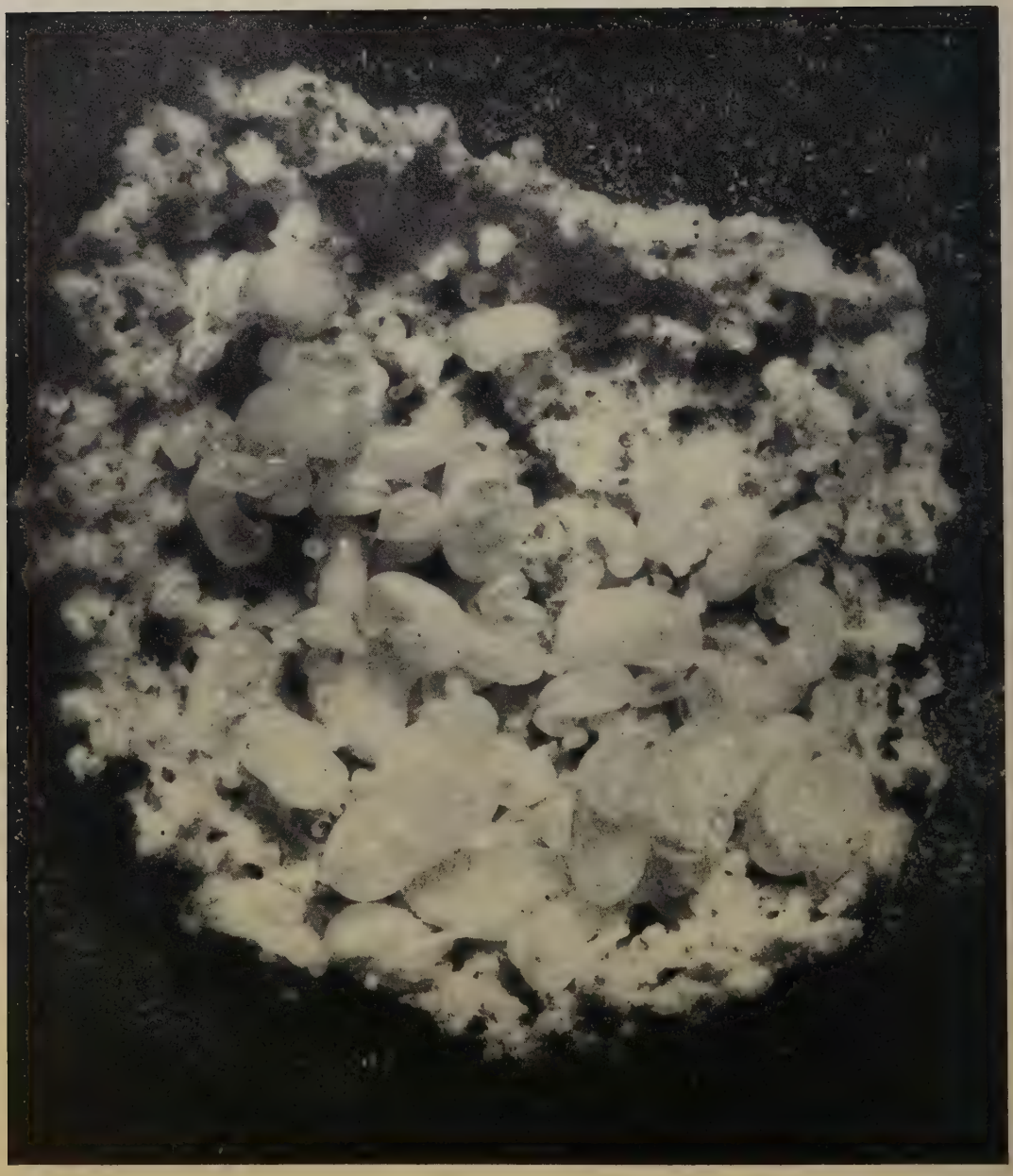


*B*

*A*



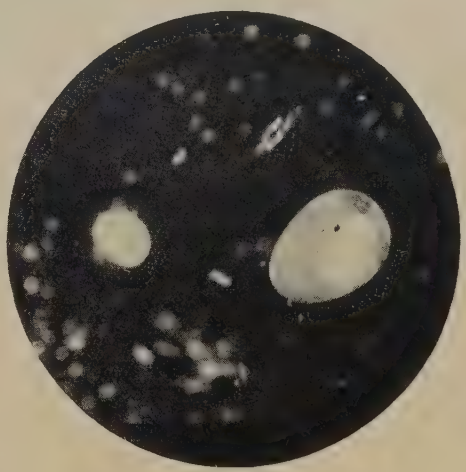
*B*



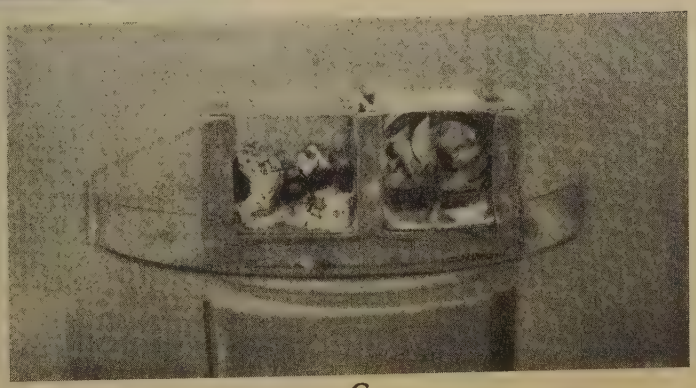
A
E
B
F
C
G
D
H

*A*

*B*



*D*



*C*

Vol. 18 — Art. 8 Outubro de 1942

# DUAS NOVAS ESPÉCIES DE "DIORYMERELLUS" (COL. CURCULIONIDAE), PREJUDICIAIS ÀS ORQUIDEAS)

POR

Oscar Monte

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 7 figuras no texto e estampa 23

Em 1932, quando o autor exercia cargo técnico na Estação Experimental de Agricultura de Belo Horizonte, Minas Gerais, teve ocasião de observar estragos feitos por curculionideos nas orquídeas que formavam o Orquidario daquela Estação Experimental.

O inseto perfurava as pétalas das espécies de *Cattleya* e *Laelia*, produzindo pequenos orificios ou pequenas arranhaduras superficiais, que prejudicavam sobremodo o bom aspecto das flores. Os estragos nas espatas eram de igual importância, impedindo que elas se abrissem.

O número de coleopteros era grande, o que concorria para que as pétalas se apresentassem perfuradas em quasi todas as plantas. Em dois ou três dias as flores murchavam e em seguida secavam. A princípio julgamos que o inseto viesse de plantas do mato que circundava a área cultivada da referida Estação. Observações posteriores, porem, mostraram-nos que o ciclo evolutivo do inseto se faz nas próprias orquídeas.

O coleoptero produz com o rostro um pequeno furo no ovário da flor, onde põe um ou mais ovos, e as larvas nascidas se alimentam do conteúdo do ovário, atingindo depois as outras partes da flor. Outras vezes a postura é feita na espata e as larvas se alimentam da flor total. Quando a flor está aberta, os estragos das larvas só se fazem sentir muito tempo depois, porquanto as larvas se localisam somente na base (Vide estampa 23) ; quando, entretanto, a espata é atacada, toda a flor é destruida e por conseguinte a espata não se abre.

Na impossibilidade de determinar naquela ocasião o material, foi este remetido ao Prof. COSTA LIMA que incorporou a praga, em seu "Terceiro Catálogo dos Insetos do Brasil", como *Diorymerellus*, sp.

Com a nossa transferência para S. Paulo, aquí encontramos outro coleoptero do mesmo gênero, que, como o de Minas, causa identicos estragos nos orquidários paulistas. A nossa atenção foi novamente atraida para o que há tempos passados havíamos observado. Colhemos abundante material, posteriormente acrescido com dádivas dos orquidófilos paulistas, alem de uma boa série de exemplares colhidos e criados pelo Dr. HELIO LEPAGE, em seu laboratório.

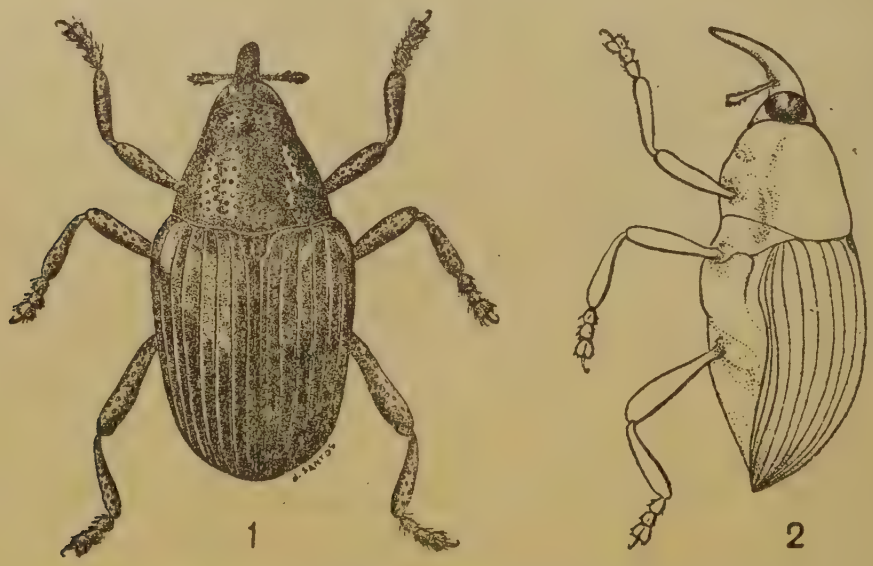
Sendo pragas de importância para a cultura das orquídeas, procuramos classificar o material e verificamos tratar-se de duas novas espécies para a ciência e que no presente trabalho são descritas.

Estes dois curculionideos pertencem à subfamilia dos Bariineos.

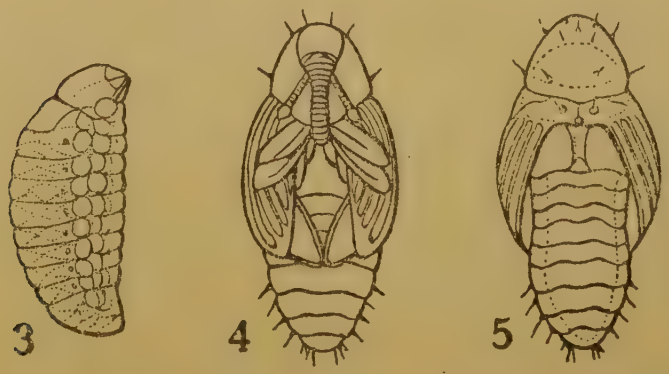
## *Diorymerellus lepagei*, n. sp.

Figs. 1-5

Oval, convexo, largo, totalmente preto-brilhante. Cabeça delicadamente pontuada. Pronoto mais brilhante que os élitros. Rostro curvo e grosso e tão longo quanto o pronoto e delicadamente pontuado. Antenas escuras com a clava pardo-escura e oblongo-ovata. Escutelo retangular e não muito brilhante.




*Diorymerellus lepagei* MONTE, n. sp. Fig. 1 - Adulto visto pelo dorso. Fig. 2 - *Idem* visto de lado.




*Diorymerellus lepagei* MONTE, n. sp. Fig. 3 - Larva. Fig. 4 - Ninfa, vista ventral. Fig. 5 - Ninfa, vista pelo dorso.

Élitros mais largos que o pronoto, estreitando-se pouco a pouco para o ápice; cada élitro com oito estrias, em linhas não interrompidas. Entre as estrias as pontuações são menos acentuadas que as do pronoto; delas saem minusculos pêlos esbranquiçados; os ombros lisos e pouco salientes.

A parte inferior do corpo e patas fortemente pontuadas; de cada uma destas pontuações sai um delicado pêlo amarelo-claro.

Segmentos tarsais largos e cobertos com densa e delicada penugem esbranquiçada.

Comprimento 2.72 mm.; largura 1.47 mm.

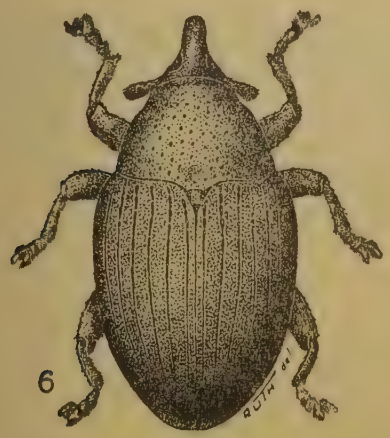
Tipo e dois cótipos colhidos em orquídeas, S. Paulo, 14-I-1942 pelo Dr. HELIO LEPAGE.

A espécie é dedicada, numa homenagem especial, ao Dr. HELIO S. LEPAGE, meu colega, que muito se tem interessado pelos estudos das pragas das orquídeas.

## *Diorymerellus minensis*, n. sp.

Figs. 6-7

Curtamente ovalado, brilhante, avermelhado. Cabeça pouco pontuada, levemente excavada entre os olhos; rostro fortemente curvado, grosso, cortado por finos sulcos, tão longo quanto o pronoto e coberto delicadamente por minusculos pêlos amarelados. Antenas inseridas no meio do rostro, avermelhadas, com a clava pardacenta.



*Diorymerellus minensis* MONTE, n. sp. Fig. 6 - Adulto visto pelo dorso. Fig. 7 - *Idem* visto de lado.

Pronoto liso, brilhante, sanguineo, fortemente constricto na frente e com pontuações espacejadas.

Élitros mais longos que o protorax, de um castanho-escuro quasi avermelhado, os ombros pouco salientes. Cada élitro com seis estrias interrompidas.

A parte inferior do corpo, escura, exceto o prosterno; o meso e o metasterno com fortes pontuações; o prosterno ao longo da linha mediana com pêlos dourados.

Patas castanho-escuras com pêlos esbranquiçados; tarsos não cobertos como na espécie anterior.

Comprimento 2.38 mm.; largura 1.36 mm.

Tipo e 3 cótipos colhidos pelo autor em orquídeas, janeiro 1932, Belo Horizonte, Minas Gerais.

A presente espécie muito se assemelha à antecedente, mas dela se distingue pela disposição das estrias dos élitros; pelo pronoto menos e diferentemente pontuado; e pelo menor tamanho.

Os tipos de ambas as espécies estão na coleção do autor e cótipos na coleção da Instituto Biológico.

## TWO NEW SPECIES OF "DIORYMERELLUS" (Col. Curculionidae), SERIOUS PESTS OF ORCHIDS

*Abstract*

*The descriptions of two new species of weevils of the genus Diorymerellus Champion, from Brazil, are contained in this paper. These insects are becoming serious pests of orchids. The types and cotypes are in the* Monte *collection and cotypes in the collection of the Instituto Biologico, S. Paulo.*

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 23

Fig. *A* — Flor de orquídea danificada pelo adulto *Diorymerellus lepagei*, n. sp. vendo-se no ovário duas larvas.

Fig. *B* — Duas espatas perfuradas pelo adulto.

*A*

*B*

Vol. 18 — Art. 9 Outubro de 1942

# APONTAMENTOS SÔBRE TINGITIDEOS (HEMIPTERA) AMERICANOS, ESPECIALMENTE DO BRASIL

POR

Oscar Monte

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 2 figuras no texto

O presente trabalho contém as descrições de seis novas espécies de tingitideos do Brasil e notas sobre outras espécies da fauna americana. Em cada uma delas se fazem referencias aos doadores e procedencias. O autor muito agradece a todos quantos o têm auxiliado nos estudos destes pequenos e interessantes percevejos. Os tipos estão na coleção do autor.

## 1 — *Acanthocheila rustica*, n. sp.

Colorido geral castanho escuro, com as elevações dos élitros mais enegrecidas. Cabeça castanho-clara, sem espinhos. Antenas amareladas, cobertas de pêlos, com mais intensidade no IV segmento; o primeiro segmento uma vez e meia mais longo que o segundo; o terceiro quasi duas vezes o comprimento do quarto. Rostro curto, amarelado, não alcançando a extremidade da abertura rostral, a qual se apresenta larga e rasa.

Pronoto elevado, bem pontuado, com alguns pêlos; carena mediana bem distinta, quasi indistintamente uniareolada; a parte da porção triangular fortemente truncada no ápice. Vesicula apenas formada por uma diminuta elevação do colo. Paranotos planos e uniseriados, compostos de aréolas pequenas que diminuem à proporção que se dirigem para a parte humeral, e suas margens com numerosos pêlos finos e longos e armados de fortes e longos espinhos.

Élitros largos, ovalados, cobertos de longos pêlos dourados; área costal largamente uniseriada na metade anterior, bisseriada um pouco além da elevação túmida, para depois apresentar-se novamente uniseriada; margem costal provida de numerosos pêlos finos e longos e de espinhos compridos; subcostal larga; discoidal com quatro carreiras de aréolas na sua maior largura, tendo muito saliente a nervura que a separa da subcostal. A elevação túmida dos élitros é menor que as de *A. visenda* D. & H. e *A. nexa* DRAKE. A parte que se espalha sobre a discoidal, muito curta e pouco elevada, sendo entretanto bem desenvolvida na parte correspondente à subcostal; esta elevação é formada por células largas.

A parte inferior do corpo, pardacenta; o abdomen castanho-claro brilhante. O orifício metasternal muito desenvolvido.

Patas amareladas, e tarsos escuros.

Comprimento 2.50 mm.; largura 1.25 mm.

Holótipo (macho) e alótipo (fêmea), colhidos pelo autor, em 24-VI-1942, na fazenda das Palmeiras, Ipaussú, S. Paulo.

Esta espécie é muito semelhante à *A. hollandi* DRAKE, da qual se distingue pela área costal largamente uniseriada na parte anterior;

pela elevação dos élitros, muito maior, e pelas aréolas dos paranotos, mais largas. De *A. nexa* DRAKE, pelas ausencia de vesicula (em *nexa*, a vesicula é "moderately large"); pelas elevações dos élitros, muito menores (*nexa* tem-nas "large tumid elevations"). Pelo desenho de *A. nexa* (Tr. Inst. Zool. Ac. Sc. URSS, III:700, 1936) a elevação abrange grande parte da área discoidal, o que não se vê em *A. rustica*, n. sp., cuja elevação pouco se estende nesta área.

### 2 — *Corycera fallax*, n. sp.

Alongada, preta, exceção da área costal, patas e os segundo e terceiro segmentos, que são claros. Antenas longas, o primeiro segmento castanho, muito curto e ligeiramente maior que o segundo; o terceiro mais de duas vezes maior que o quarto; este útimo, escuro, maior que a soma dos dois primeiros, e coberto de pêlos. Cabeça escura, túmida, com cinco espinhos mais ou menos longos. Abertura rostral alargando-se posteriormente, fechada atraz. Rostro curto, amarelado, com a extremidade enegrecida e não alcançando a sutura meso-metasternal.

Pronoto fortemente convexo, bastante pontuado, as pontuações da porção triangular bem mais largas; o colo um tanto largo, com duas carreiras de pequenas aréolas; tricarenado; as carenas distintas, quasi obsoletas sobre o disco. Paranotos estreitos, uniseriados, na frente com 2-3 carreiras, bisseriado, e com as aréolas muito pequenas.

Élitros longos, estreitando-se um pouco além do meio, com o ápice arredondado; área costal larga, bisseriada, com três carreiras de aréolas na sua maior largura, as aréolas internas maiores, as margens serreadas; subcostal alta, quadriseriada na parte mais larga; discoidal excavada, limitada por nervuras salientes.

Comprimento 2.84 mm.; largura 1.13 mm.

Holótipo (macho) e alótipo (fêmea) e 5 parátipos, colhidos pelo autor na fazenda das Palmeiras, Ipaussú, S. Paulo, 24-VI-1942.

A espécie pode ser confundida com *Leptopharsa decens* D. & H. e é muito semelhante à *Corycera alboater* D. & H., da qual se distingue pela presença de paranotos. Da primeira das espécies é facilmente distinta pelos paranotos mais estreitados e uniseriados.

### 3 — *Corycera pusilla*, n. sp.

Muito pequena, estreita, preta luzidia no pronoto e preta opaca nos élitros. Patas quasi brancas. Antenas amareladas, salvo o primeiro segmento que é castanho-escuro e tem o mesmo comprimento do segundo; o terceiro é duas vezes e meia maior que o quarto; e este por sua vez maior que a soma dos dois primeiros. Tubérculos anteníferos grossos e curtos. Cabeça escura, a parte entre os dois espinhos posteriores levantada e fortemente pontuada. Os espinhos são curtos, amarelados, sendo os anteriores e o mediano dirigidos para baixo, e os posteriores ligados à superfície da cabeça. Búcula alta. Abertura rostral com as lâminas do mesosterno muito baixas, alargando-se posteriormente e fechada atraz. Rostro curto, alcançando um pouco além do primeiro par de patas.

Pronoto muito elevado, brilhante, fortemente pontuado, a porção triangular mais clara, formada de células largas. Paranotos nulos, na frente junto ao colo, uniseriados, somente com uma ou duas células. Tricarenado, as carenas laterais muito baixas e convergentes para a porção triangular; a carena mediana um pouco mais alta, e quasi indistintamente areolada.

Élitros arredondados atraz; área costal sem aréolas distintas, exceção da parte terminal, que é uniseriada, com duas ou três células longas e estreitadas, e aí de colorido branco; subcostal bisseriada; discoidal excavada, triseriada em sua maior largura, sendo a carreira externa, composta de aréolas muito pequenas.

Comprimento 2.20 mm.; largura 0.68 mm.

Holótipo (macho) e dois parátipos colhidos pelo Dr. H. SAUER, em Bocaina, S. Paulo, em 4-III-1942.

A espécie é extremamente parecida com *C. spissa* DRAKE, da qual se distingue pelo colorido brilhante, pela presença de aréolas na área costal, e pelos espinhos da cabeça, menores.

### 4 — *Gargaphia holoxantha*, n. sp.

Fig. 1

Cabeça preta luzidia, com cinco espinhos finos e esbranquiçados; o par anterior dirigido para cima; o espinho medio ereto, com sua extremidade tocando nas duas outras do par anterior; o par posterior correndo um pouco por sobre a superfície da cabeça, mas não descançando sobre ela. Antenas longas, amareladas, o último segmento escuro. O primeiro três vezes maior que o segundo; o terceiro um pouco mais de três vezes o comprimento do quarto; a soma dos dois primeiros igual ao quarto. Vesícula levemente globosa, de tamanho regular. Rostro curto, alcançando a lâmina. Búcula larga.

Paranotos largos, pouco levantados, irregularmente bitriseriados, sendo as células da carreira interna muito menores; as margens indistintamente serreadas. Pronoto pouco elevado, fortemente pontuado, a parte da porção triangular, mais clara e composta de pequenas aréolas ovaladas, sendo as da extremidade bem maiores. Carenas pouco elevadas e uniseriadas.

Élitros com margens espinhosas; área costal triseriada, com algumas carreiras com quatro aréolas; subcostal larga, quasi da mesma largura que a costal; discoidal não alcançando a metade dos élitros, excavada, com as nervuras que a limitam muito salientes.

Parte inferior do corpo, escura. Patas amareladas e tarsos escuros.

Comprimento 2,97 mm.; largura 1.25 mm.

Holótipo (macho) e alótipo (fêmea) e sete parátipos, de Campos, Estado do Rio, colhidos pelo Dr. HERVAL DE SOUZA, em 5-XI-1941.

Não se parece com as espécies do genero *Gargaphia*; somente a lâmina que estrangula a abertura rostral, nos leva a colocá-la neste genero.

Fig. 1 — *Gargaphia holoxanta* MONTE, n. sp.

5 — *Gargaphia dissortis* DRAKE

Um exemplar de Agua de Oro, Cordoba, Argentina, em janeiro de 1940, colhido pelo Dr. JOSÉ A. DE CARLO. E' a primeira citação que se faz desta espécie fora da fauna brasileira.

6 — *Leptopharsa elata* (CHAMPION)

Vinte exemplares, 30-VIII-1941, colhidos pelo Dr. A. BIERIG em Escarú, Costa Rica. Depois da descrição original, é a primeira vez que é citada.

A carena mediana é alta, um pouco elevada anteriormente e nesta parte bisseriada, na porção triangular, uniseriada; as carenas laterais uniseriadas e bem mais baixas que a mediana.

A parte inferior do corpo, a base da vesícula e a cabeça, cobertas com bastante exudação esbranquiçada.

A cabeça com cinco espinhos testaceos, dos quais o par posterior é muito curto, e por vezes escondido na exudação cerosa, e tocando-se as extremidades; o espinho mediano ereto; o par anterior longo, ereto, e dirigido para fora.

### 7 — *Leptopharsa deceptiva* (Drake & Bruner)

Quatro exemplares de Brasso, Trinidad, B. W. I., colhidos sobre folhas de *Ipomaea*, sp., em 31-X-1941, por S. Daniel. A planta sua hospedeira era desconhecida.

### 8 — *Sphaerocysta maculata*, n. sp.

Fig. 2

De tamanho médio, amarelo-pálido, com manchas escuras. Antenas mais ou menos longas, amareladas, exceto o IV segmento, que é escuro, de base clara; o I grosso e o dobro do II; o III cinco vezes maior que o IV; este último escuro e tendo pêlos. Rostro amarelo-fosco, alcançando o metasterno. Abertura rostral apertada no início, depois bastante larga. Vesícula subglobosa, levemente afilada na frente, escura e com a parte posterior amarelada; a nervura que divide esta vesícula ao meio, um tanto grossa e escura; duas aréolas ovais, pequenas e bem juntas a esta nervura.

Pronoto amarelo-dourado, brilhante, bem elevado; a porção triangular mais clara; bem pontuado; tricarenado; as carenas laterais elevadas sobre o disco e muito baixas nas extremidades, sem aréolas e levemente curvadas para dentro; a carena mediana quasi obsoleta sobre a parte discal e um pouco elevada na porção triangular, formando aí uma pequena bexiga, a qual por sua vez traz uma pequena mancha escura. Paranotos estreitos, levemente mais alargados na frente, com uma série de aréolas punctiformes.

Élitros bem mais longos que o abdomen e arredondados atraz; elevação túmida da discoidal um tanto saliente e escura; área costal largamente uniseriada, com aréolas transparentes, sendo as da parte posteriores maiores e quadrangulares; mais ou menos no centro desta área nota-se u'a mancha escurà que atinge três nervuras e a margem costal; subcostal larga, na maior parte triseriada e com quatro carreiras de aréolas na sua maior largura; discoidal curta, com a nervura que a separa da subcostal muito saliente e tendo uma pequena mancha pardacenta no seu terço anterior; a sutural com nervuras e aréolas foscas, tornando a parte terminal, escura.

A parte inferior do torax escura, coberta com secreção esbranquiçada. Patas amareladas e tarsos escuros.

Comprimento 2.50 mm.; largura 1.09 mm.

Fig. 2 — *Sphaerocysta maculata* MONTE, n. sp.

Holótipo (macho) e alótipo (fêmea) e 8 parátipos colhidos pelo autor, na fazenda das Palmeiras, Ipaussú, em 24-VI-1942; um exemplar, na Fazenda do Bosque, Cordeiro, S. Paulo, em 5-III-1941.

Esta espécie é semelhante à *S. brasiliensis* MONTE, da qual se distingue pela área costal uniseriada na base; pela elevação da área discoidal, maior; pelos paranotos uniseriados, na parte anterior.

### 9 — *Pachycysta shildi* DRAKE

Três exemplares (uma fêmea e dois machos) de Naiguatá, Venezuela, colhidos pelo Dr. RENÉ LICHY, em 25-VIII-1941. A espécie é descrita de Turrialba, Costa Rica, por um só exemplar macho, sendo pois o especime fêmea o alótipo (em minha coleção). As medidas são menores que o holótipo macho (4.43 x 2.11) enquanto o alótipo (4.34 x 2.34). Os exemplares concordam com a descrição de DRAKE, em

Ent. News, XXXIX (6) :185, 1928, salvo no colorido. O IV segmento antenal (que falta no holótipo) é escuro, tendo a base amarelada.

### 10 — *Pachycysta diaphana* CHAMPION

Em trabalho anterior (Arq. Inst. Biol., 11:300, 1940) anotamos a presença desta espécie em S. Paulo. Em recente viagem feita pelo Dr. FREDERICO LANE, do Departamento de Zoologia, no Estado de Goiaz, (Goiânia, Pirenopolis e Corumbá), foram colhidos oito exemplares deste interessante tingitideo.

### 11 — *Atheas elongata* DRAKE

Um exemplar de Lassance, Minas Gerais, 9 e 19 Novembro 1919, Cornell Un. Expedition. Até agora somente conhecida da localidade típica.

### 12 — *Teleonemia notata* CHAMPION

Três exemplares de Santiago de las Vegas, Cuba, colhidos pelo Dr. S. C. BRUNER, sobre "Garbancillo".

### 13 — *Pleseobyrsa chiriquensis* CHAMPION

Um especime de Maracay-Choroni, Estado de Aragua, Venezuela, colhido pelo Dr. RENÉ LICHY, em 6-XI-1940. O tipo é de Bugaba, Panamá. E' a primeira citação que se faz dela para a Venezuela, como também a primeira citação da espécie depois da descrição original.

### 14 — *Leptodictya dilatata*, n. sp.

Larga, amarelo-pálida e com a cabeça e o pronoto acastanhados, as aréolas hialinas.

Cabeça castanho-clara, com cinco espinhos longos, afilados e amarelados; os espinhos da frente alcançando a metade do primeiro segmento antenal; o mediano mais longo, excedendo o segundo segmento das antenas; e os detraz, longos e dirigidos para fora. Rostro curto, não alcançando o segundo par de patas, castanho-claro e com a extremidade escura. Abertura rostral muito larga e pouco profunda. Antenas relativamente curtas, castanho-fuscas, o último segmento escuro e coberto de pêlos delicados; o primeiro segmento quasi o dobro do segundo; o terceiro três vezes maior que o quarto, e este a soma dos dois primeiros.

Pronoto castanho-sanguineo, bem elevado na parte do disco, bem pontuado; a porção triangular larga, formada de aréolas pequenas na base e largas, no ápice; a parte humeral um tanto saliente. Paranotos largos, uniseriados (o parátipo tem uma das células bisseriada), as aréolas largas e quadrangulares; a parte dobrada sobre o pronoto em linha curva, do que resulta serem as aréolas do meio, maiores do que as das extremidades; a margem externa mais ou menos sinuosa. Vesicula bem desenvolvida, não lançada sobre a cabeça. As carenas pouco desenvolvidas,

quasi obsoletas sobre o disco, indistintamente uniareoladas. A carena mediana mais elevada junto à vesícula, e aí largamente uniseriada. Colo brilhante e castanho-escuro.

Élitros largos, muito mais compridos que o abdomen, as aréolas hialinas, os ápices arredondados e levemente separados, as margens externas, serreadas; área costal larga, com as carreiras de aréolas (5-6) dispostas irregularmente, e com 2-3 nervuras transversais mais fortes; discoidal muito longa, alcançando quasi a parte terminal do abdomen, com seis carreiras de aréolas na sua maior largura.

Patas castanho-claras e tarsos escuros.

Comprimento 4.08 mm.; largura 2.50 mm.

Holótipo (fêmea) e um parátipo, de Nova Friburgo, Estado do Rio, colhidos pelo Dr. HUGO DE SOUZA LOPES, em 27-IV-1937.

Esta espécie é semelhante à *L. sodalatis* DRAKE, da qual se distingue pelo menor tamanho; pela disposição das carenas; e pela ausencia de nervuras escuras na área costal.

## NOTES ON AMERICAN TINGITIDAE (HEMIPTERA) CHIEFLY FROM BRAZIL

*Abstract*

*The present paper contains notes on 14 species of lace — bugs, 6 of which are described as new to science. Unless otherwise stated, the specimens were collected by the writer. The types of the new species are in the Author's collection.*

Vol. 13 — Art. 10 Novembro de 1942

# PREPARAÇÃO E PROPRIEDADES FARMACOLOGICAS DE COMPOSTOS SIMPLES DE HISTAMINA COM AMINO ACIDOS (*)

POR

M. Rocha e Silva

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 6 figuras no texto

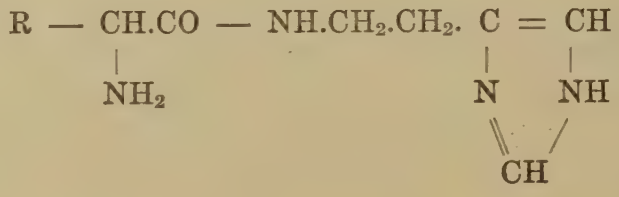
Em trabalhos anteriores estudámos as propriedades farmacologicas da tripsina, fermento proteolítico extraido sob forma cristalina do suco pancreatico (6, 8, 9). Foi feito então um estudo minucioso da capacidade que tem a tripsina de libertar histamina dos tecidos, em doses extremamente pequenas. Pelos dados referidos na literatura, sobre outras substâncias, como venenos animais e peptonas, que libertam histamina, póde-se admitir que a tripsina esteja situada entre as substâncias mais ativas quanto á produção desse efeito.

Outros enzimas proteoliticos produzem libertação de histamina. Em colaboração com DRAGSTEDT (10), estudamos os efeitos da papaína, da pepsina, da ficina e da quimotripsina, sobre a pele do coelho, usando o test do azul tripan como indicação de uma libertação de histamina. Todos esses fermentos produziram tests positivos em concentrações maiores ou menores, mas como o ótimo de pH dos enzimas citados nem sempre corresponde ao pH dos tecidos vivos, apenas a tripsina e a quimotripsina, que são ativas em pH proximo da neutralidade, foram usadas comparativamente, em experiências de produção de choque ou sobre a musculatura lisa de mamiferos. Ao contrario do que ocorre com a tripsina, a quimotripsina apresenta uma atividade extremamente fraca sobre o utero e o intestino de cobaia e sobre a pressão arterial do gato. Embora não tenha sido muito detalhado o estudo comparativo, feito por nós, entre as propriedades farmacologicas da tripsina e da quimotripsina, as diferenças foram tão pronunciadas que não poderiam ser explicadas por diferenças na atividade proteolítica de ambos esses enzimas sobre um substrato proteico como a caseina.

As ligações da histamina com as proteinas celulares são de natureza desconhecida, mas a libertação de histamina, sob a ação dos fermentos proteoliticos, poderia sugerir a existência de uma ligação péptida entre a amina e as cadeias de amino acidos no interior das células.

(*) A parte quimica deste trabalho foi realizada no laboratorio do prof. Bergmann, no Instituto Rockefeller, em Nova York, com um *fellowship* da Fundação Guggenheim.

O esqueleto de uma ligação péptida da histamina com o grupo carboxílico livre de uma cadeia de amino acidos é dado pelo esquema seguinte:



Como é sabido, essas ligações pódem ser rompidas pela ação de fermentos proteolíticos. Além disso, as diferenças de atividade entre a tripsina e a quimotripsina levam a admitir, para essa ligação péptida, a existencia de uma certa especificidade em relação aos fermentos proteolíticos.

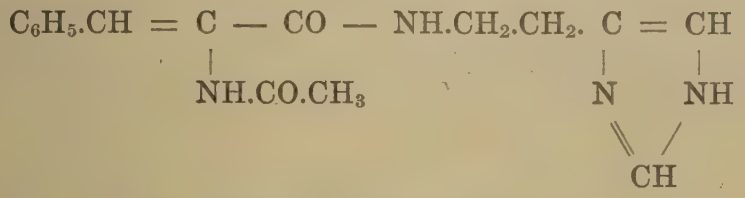
A especificidade dos fermentos proteolíticos em relação a substratos sintéticos simples tem sido estudada de maneira exaustiva pelo grupo do prof. BERGMANN (5, 6), no Instituto Rockefeller. Como exemplo dessa especificidade poderia ser citado o caso da benzoil l. arginina amida que sob a ação da tripsina, é cindida em benzoil l. arginina e amônea. A quimotripsina, ao contrario, não tem efeito nenhum sobre esse substrato, rompendo especificamente o élo "tirosil - glicina" da cadeia de ligações péptidas da carbobenzoxi l. glutamil l. tirosil glicina amida.

No laboratorio do prof. BERGMANN, em Nova York, fizemos as primeiras tentativas para abordar, de um ponto de vista quimico, o problema da libertação de histamina dos tecidos vivos, pela sintese de substratos simples em que a histamina se encontra em ligação péptida com resíduos de amino acidos naturais.

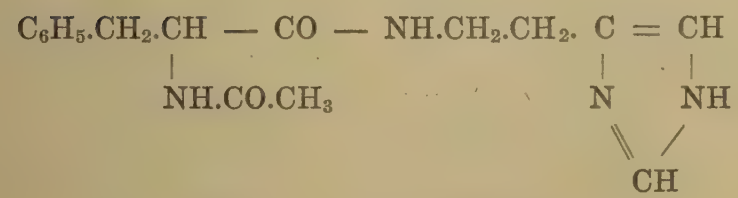
A idea original era sintetizar um substrato que tivesse maiores probabilidades de ser cindido pela tripsina e não pela quimotripsina. Procuramos sintetizar a benzoil l. arginina histamina, que diferiria da benzoil l. arginina amida (substrato especifico da tripsina) apenas pelo fato de apresentar uma molecula de histamina, em vez de uma de amônea, ligada ao grupo carboxila da arginina. Entretanto a presença de um radical fortemente alcalino, o radical guanidina, na molecula da arginina, tornou improficuas todas as tentativas que fizemos para sintetizar aquele substrato.

Sintetizamos outros substratos, em que a histamina se encontra em ligação péptida com residuos de amino acidos: a acetilamino cinamil histamina (I), a acetil d, l. fenil alanil histamina (II), a benzoil

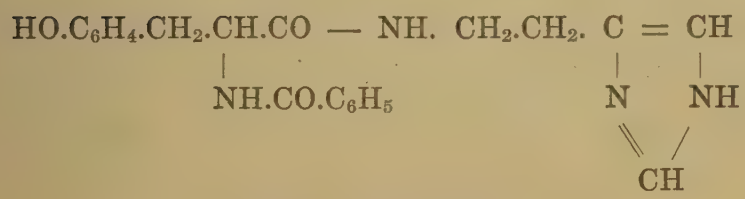
l. tirosil histamina (III), a carbobenzoxi l. tirosil histamina (IV) e a carbobenzoxi l. leucil histamina (V).



I. Acetilamino cinamil histamina



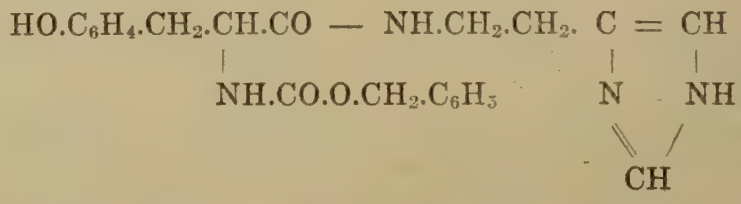
II. Acetil d, l. fenilalanil histamina



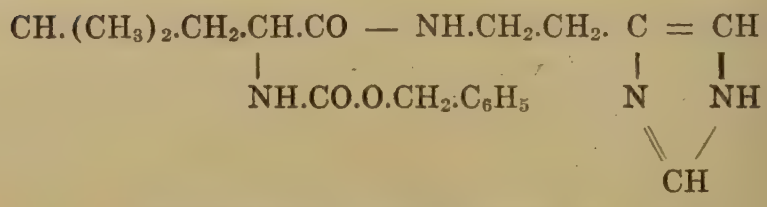
III. Benzoil l. tirosil histamina

Do ponto de vista biológico o fato interessante é que todos esses compostos são quase inativos, farmacologicamente. Este fato, parece ser importante, para se atacar não só o problema da libertação de histamina, como tambem o problema não menos importante da desintoxicação da histamina nos tecidos vivos. Embora a existência de um enzima histaminolítico — a histaminase — tenha sido demonstrada por BEST & MC HENRY (5), numerosas experiências têm mostrado a insuficiência desse enzima para explicar o quase instantâneo desaparecimento da histamina injetada na veia ou libertada dos tecidos. A histaminase tem sido recentemente experimentada, com resultados absolutamente negativos, (2,11), para neutralizar os efeitos do choque anafilático ou histaminico na cobaia. *In vitro,* a histaminase age lentamente, sendo necessário um contacto de 24 horas para uma unidade de histaminase destruir um miligrama de histamina. Interessantes são as experiências de AHLMARK, KORNERUP e TARRAS-WAHLBERG (1) que demonstraram a simples captura de histamina como um possivel processo de desintoxicação dessa substância pelas células do pulmão. Nada

se sabe quanto à química dessa captura de histamina, mas o fato de perder a histamina as suas propriedades farmacologicas quando entra em combinação com os grupos carboxílicos dos amino acidos, como veremos a seguir, parece indicar que a captura dessa substância pelos grupos carboxílicos livres das cadeias de amino acidos celulares poderia ser um dos mecanismos de defeza do organismo contra essa amina toxica.



IV. Carbobenzoxi l. tirosil histamina



V. Carbobenzoxi l. leucil histamina

## I

## SINTESE DOS COMPOSTOS DE HISTAMINA COM AMINO ACIDOS (*)

I. Cloridrato de acetil amino cinamil histamina — Um equivalente de dicloridrato de histamina (1,84 gm) dissolvido em 10 cc de agua é sucessivamente tratado com 20 cc de NaOH normal, 10 cc de acetona e 2,04 gms da azlactona do acido acetilamino cinâmico. A mistura é agitada durante 4 horas em agitador mecânico. O resto da azlactona que não entrou em solução é retirado por filtração, e 10 cc de HCl normal são adicionados. Em seguida a mistura é secada no vacuo, e tres porções de alcool etílico absoluto são adicionadas sucessivamente, para remover toda humidade. Para purificação, o resíduo cristalino é dissolvido em alcool etílico absoluto, e o residuo insoluvel (NaCl), removido por filtração. O alcool é secado em seguida, no vacuo, e a mesma operação repetida três veses. A substância cristaliza facilmente do alcool a quente em longas agulhas. Ponto de fusão: 134 — 137°, com decomposição. A substância é facilmente soluvel na agua, no alcool etílico absoluto a quente, e menos soluvel no alcool etílico a frio, e na acetona. Para analise, a substância foi recristalizada 2 vezes a partir do alcool a quente. A adição de acetona aumenta o rendimento.

(*) A parte quimica do trabalho foi realizada sob a direção do prof. Bergmann, a quem agradecemos. Agradecemos tambem valiosas sugestões dos Drs. G. W. Irving, J. S. Fruton e S. Moore, bem como as analises realizadas pelo Snr. S. M. Nagy.

| Analise: | | N% | C% | H% |
|---|---|---|---|---|
| $C_{16}H_{18}O_2N_4.HCl$ | Calculado: | 16,7 | 57,4 | 5,7 |
| 334,8 | Achado: | 16,6 | 57,3 | 5,9 |

A base livre da acetilamino cinamil histamina, foi obtida tratando-se o cloridrato com uma solução diluida de NaOH, ou melhor, pela omissão da adição de HCl, depois da conjugação da histamina com a azlactona. A base livre é soluvel em agua a quente, de onde cristaliza pelo resfriamento. E' muito soluvel no alcool etílico e na acetona. Depois de 2 recristalizações a partir da agua quente:

| Analise: | | N% |
|---|---|---|
| $C_{16}H_{18}O_2N_4$ | Calculado: | 18,8 |
| 298,3 | Achado: | 18,7 |

II. Acetil d,l. fenilalanil histamina (cloridrato) — Uma grama de cloridrato de acetilamino cinamil histamina é dissolvida em 10 cc de alcool metílico e 0,24 cc de acido acético glacial adicionado. A mistura é hidrogenada usando-se o negro paladio como catalizador. Depois de 2 horas de agitação em atmosféra de hidrogenio, a quantidade do gas fixado pela substância foi aproximadamente 75 cc (valor teorico: 73 cc a 755 mm Hg e 26,6° de temperatura).

Depois da hidrogenação, o catalizador é filtrado e a solução evaporada no vacuo. Para remover o acido acético, 30 cc de agua são adicionadas em 3 porções e a solução cada vez secada no vacuo. Pequenas quantidades de acetona são adicionadas para facilitar a obtenção de um pó cristalino, altamente higroscópico.

| Analise: | | N% | C% | H% |
|---|---|---|---|---|
| $C_{16}H_{20}O_2N_4HCl$ | Calculado: | 16,6 | 57,0 | 6,3 |
| 336,8 | Achado: | 16,3 | 56,7 | 6,6 |

III. Benzoil l. tirosil histamina — Um equivalente da hidrazida da benzoil l. tirosina (0,6 gm) é dissolvido em uma mistura de 10 cc de agua, 1,5 cc de HCl concentrado e 1 cc de acido acético glacial. Depois do material entrar em solução, a mistura é resfriada sobre gelo-sal, sob forte agitação; em seguida uma solução contendo 0,18 gm de nitrito do sodio em 4 cc de agua é adicionada em pequenas porções. A azida que se forma é extraida com 50 cc de acetato de etila previamente resfriado. A solução de acetato de etila é lavada uma vez com agua gelada, 2 ou 3 vezes com uma solução diluida de $KHCO_3$ previamente resfriada e 2 vezes com agua gelada. A solução é então deshidratada pela adição de $Na_2SO_4$ anidro e filtrada em Buchner seco.

Uma solução contendo 2 equivalentes de histamina (0,44 gm), base livre (Eastman Kodak Co.), em 50 cc de acetato de etila, previamente tratado com $Na_2SO_4$ anidro, é adicionada cuidadosamente á solução da azida e a mistura mantida á temperatura ambiente. No dia seguinte, o acetato de etila é removido pela evaporação no vacuo e o residuo oleoso, amarelo, dissolvido em agua em ebulição. Pelo resfriamento forma-se um precipitado cristalino que póde ser purificado por sucessivas recristalizações a partir de soluções em agua quente. O pigmento amarelo que aparece na preparação póde ser removido por 2 ou 3 minutos de ebulição com uma pequena quantidade de *norite*. A substância é soluvel no alcool, na acetona e no eter. Pela adição de um equivalente de HCl o composto se dissolve imediatamente. Ponto de fusão: 140-146°.

| Analise: | | N% | C% | H% |
|---|---|---|---|---|
| $C_{21}H_{22}O_3N_4$ | Calculado: | 14,8 | 66,6 | 5,9 |
| 378,4 | Achado: | 14,9 | 65,7 | 6,0 |

IV. Carbobenzoxi l. tirosil histamina — Um equivalente da hidrazida da carbobenzoxi l. tirosina (0,64 gm) é dissolvido em uma mistura de 15 cc de agua, 1,2 cc de HCl concentrado e 1 cc de acido acetico glacial e transformado na respectiva azida pela adição de 0,18 gm de nitrito de sodio; em seguida a azida é extraida pelo acetato de etila e lavada com agua, $KHCO_3$ e novamente com agua e deshidratada, em condições semelhantes ás descritas para o composto III. Uma solução contendo 2 equivalentes (0,44 gm) da base livre de histamina, em acetato de etila, é em seguida adicionada á solução da azida. No dia seguinte o acetato de etila é evaporado no vacuo e o residuo oleoso é dissolvido em agua em ebulição. O composto é nitidamente menos soluvel na agua do que o anterior. Pelo resfriamento separa-se um oleo espesso que cristaliza na geladeira. A substância é pouco soluvel na agua á temperatura ambiente, mas dissolve-se facilmente pela adição de um equivalente de HCl. O composto é muito soluvel no alcool e na acetona. Ponto de fusão: 147°

| Analise: | | N% | C% | H% |
|---|---|---|---|---|
| $C_{22}H_{24}O_4N_4$ | Calculado: | 13,7 | 64,7 | 5,9 |
| 408,4 | Achado: | 13,7 | 64,6 | 6,0 |

V. Carbobenzoxi l. leucil histamina — Um equivalente da hidrazida da carbobenzoxi l. leucina (0.84 gm) é dissolvido em 15 cc de agua, 1,5 cc de acido acético glacial e 1,5 cc de HCl concentrado. Pela adição de 0,27 gm de nitrito de sodio, em 4 cc de agua, a hidrazida é transformada na respectiva azida, que é então extraida com o acetato de etila. Todas as operações foram feitas como para os compostos anteriores, em baixa temperatura e sob continua agitação. A solução da azida no acetato de etila é lavada com agua, $KHCO_3$ diluido e agua, e secada pela adição de $Na_2SO_4$ anidro.

Dois equivalentes de histamina, base livre (0,66 gms) são dissolvidos em 50 a 70 cc de acetato de etila, previamente deshidratado. A solução de histamina é então adicionada á solução da azida. Produz-se quase instantaneamente um precipitado branco cristalino. No dia seguinte o acetato de etila é evaporado no vacuo e o residuo dissolvido em agua em ebulição. Pelo resfriamento separa-se um óleo que cristaliza na geladeira. Depois de 3 recristalizações o ponto de fusão: 113-117°.

| Analise: | | N% | C% | H% |
|---|---|---|---|---|
| $C_{19}H_{26}O_3N_4$ | Calculado: | 15,6 | 63,6 | 7,3 |
| 358,4 | Achado: | 15,5 | 61,9 | 7,2 |

## II

## ESTUDO FARMACOLOGICO DOS COMPOSTOS PREPARADOS ACIMA

Material e metodos — Para o estudo das propriedades farmacologicas dos compostos descritos acima, estes eram dissolvidos em agua fisiológica pela adição de um equivalente de HCl. Depois de dissolvidos, as soluções eram bastante estaveis e podiam ser cuidadosa-

mente neutralizadas ao pH do Tyrode, usando-se azul de timol como indicador.

A hidrólise acida era feita da seguinte maneira: 10 mgs do composto, em solução na agua, eram tratados com 5 cc de HCl concentrado, e a mistura fervida durante 1 hora até consideravel redução do volume de agua. A solução era em seguida evaporada no vacuo e o excesso de acido removido por tres adições sucessivas de alcool etílico. O residuo cristalino era redissolvido em agua distilada e a solução final neutralizada com uma solução normal de NaOH.

Os ensaios sobre o intestino de cobaia eram realizados da maneira habitual, num aparelho de Dale. Um fragmento de ileo de cobaia era retirado do animal e cuidadosamente lavado com uma solução aquecida de Tyrode. Um fragmento de 2,5 cm era então suspenso em banho de 4 cc de Tyrode.

Efeitos sobre a pressão carotidiana do gato — A figura 1 mostra uma experiencia realizada com a carbobenzoxi l. leucil histamina por injeção intravenosa no gato. Na seta 10, foi injetado 1γ de histamina; na seta 11, foram injetados 2 mgs. de

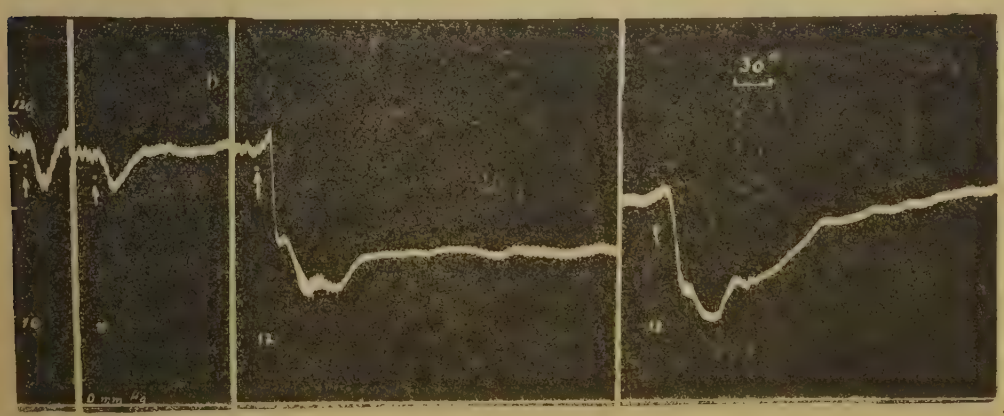


Fig. 1 — Traçado da pressão arterial no gato. Experiências com a carbobenzoxi l. leucil histamina. Explicação no texto.

carbobenzoxi l. leucil histamina antes da hidrólise acida e na seta 12, uma quantidade equivalente do composto, mas depois da hidrolise acida. Póde-se ver que o efeito de 2 mgs de carbobenzoxi l. leucil histamina foi menos pronunciado do que o de 1γ de histamina. Depois da hidrolise, entretanto, a injeção de uma quantidade correspondente do mesmo composto produziu profundo choque, muito mais severo do que o produzido por 200γ de histamina (seta 13).

A fig. 2 mostra o efeito de 1γ de histamina (em 1), de 2 mgs de carbobenzoxi l. leucil histamina (em 2), de 2 mgs de carbobenzoxi

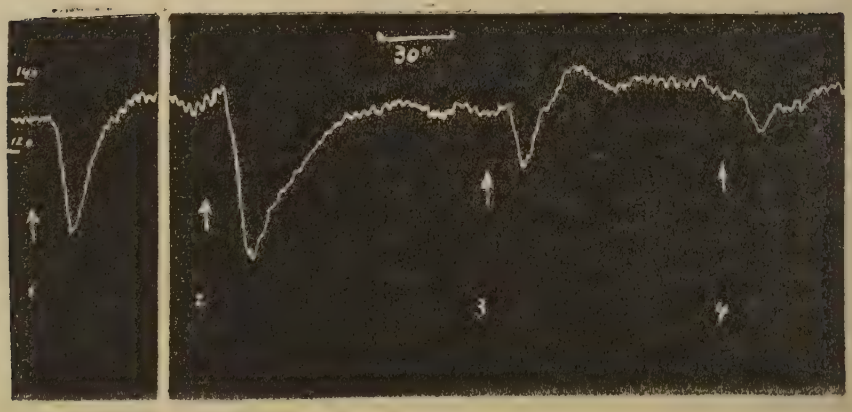



Fig. 2 — Traçado da pressão carotidiana no gato. (1) 1γ de histamina; (2), (3) e (4), respectivamente 2 mgs de carbobenzoxi l. leucil histamina, de carbobenzoxi l. tirosil histamina e de benzoil l. tirosil histamina.

l. tirosil histamina (em 3) e de 2 mgs de benzoil l. tirosil histamina (em 4). Pode-se ver que os efeitos produzidos pelas tres substâncias antes da hidrólise acida, são bastante reduzidos e pódem ser explicados pela presença de traços de histamina (1γ ou fração de gama, para 2 mgs do composto) como impureza dos preparados.

A fig. 3 mostra o efeito da injeção de benzoil l. tirosil histamina, antes (em 1) e depois (em 2) da hidrólise acida. O efeito produzido por 2 mgs do composto, antes da hidrólise, é praticamente nulo, ao

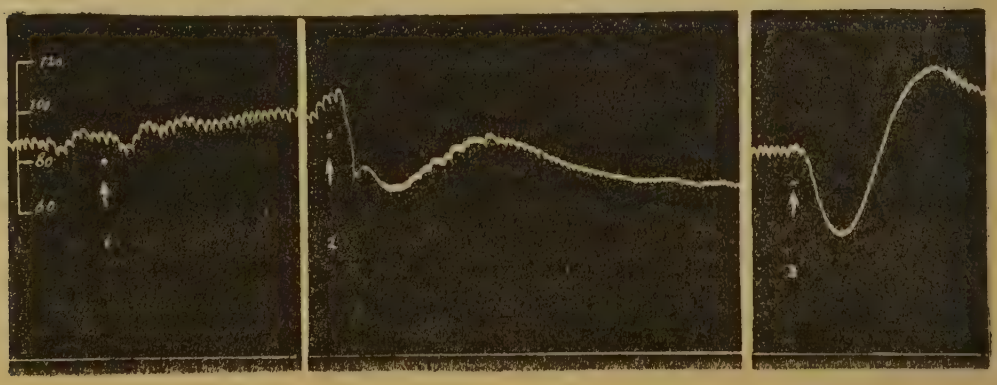



Fig. 3 — Traçado da pressão arterial no gato. Experiências com a benzoil l. tirosil histamina. Explicação no texto.

passo que depois da hidrólise a mesma quantidade do composto produz um choque histaminico grave, consideravelmente mais pronunciado do que o produzido pela injeção de 50γ de histamina (em 3).

A fig. 4 mostra uma experiência similar realizada com a acetilamino cinamil histamina. Em (1) foram injetados 2,4 mgs do com-

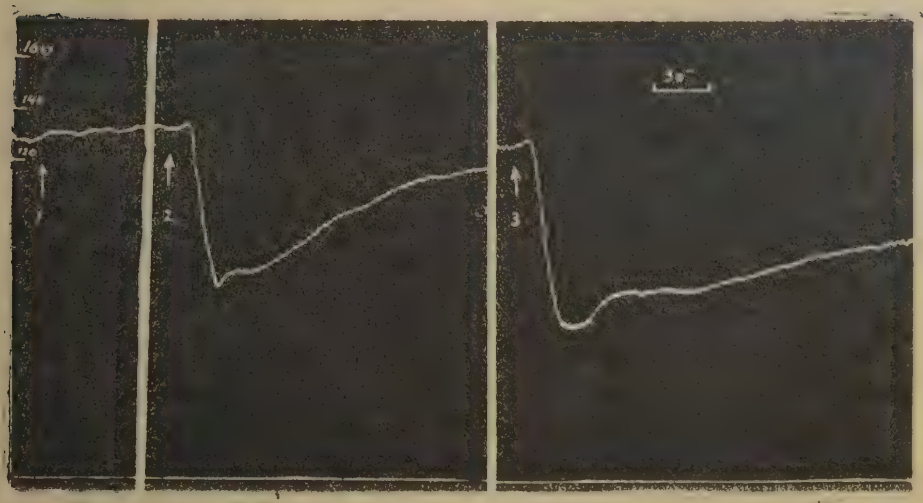


Fig. 4 — Traçado da pressão arterial no gato. Experiências com a acetilamino cinamil histamina. Em (1) foram injetados 2 mgs do composto antes da hidrólise acida, em (2) foi injetado 0,5 mgs do mesmo composto depois da hidrólise e em (3), foram injetados 200γ de histamina.

posto, antes da hidrólise acida. Em (2) foi injetada uma quantidade equivalente a 0,5 mgs do mesmo composto, depois da hidrólise acida, e em (3) foi injetada uma quantidade de histamina correspondente a 0,2 mgm da base. Póde-se ver a completa inatividade do composto antes da hidrólise e o choque produzido por uma quantidade cerca de 5 vezes menor do hidrolisado, comparavel ao efeito produzido por 200γ de histamina.

Dosagem da histamina libertada pela hidrólise acida — A figura 5 mostra a dosagem do conteúdo histaminico do hidrolisado da acetilamino cinamil histamina, pelo método

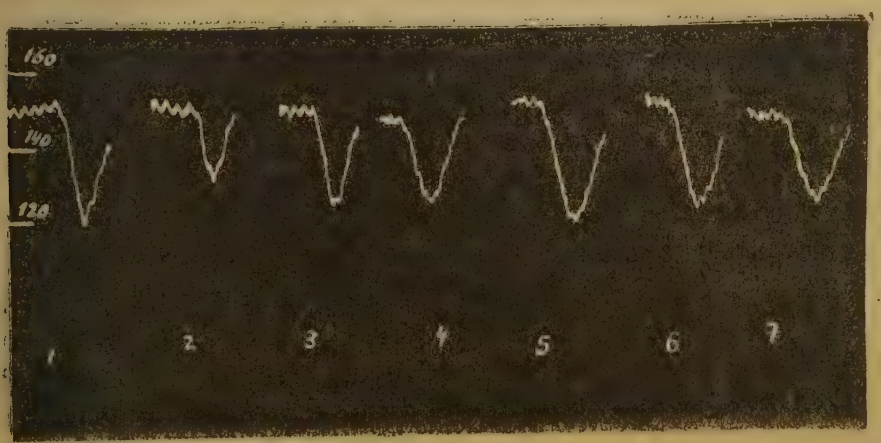



Fig. 5 — Dosagem da histamina do hidrolisado da acetilamino cinamil histamina. Traçado da pressão arterial do gato. Explicação no texto.

da pressão arterial do gato. Em 5, 6 e 7 respectivamente foram injetados 1γ de histamina, 0,6 cc da solução do hidrolisado, contendo 5γ por cc da acetilamino cinamil histamina e finalmente 0,8γ de histamina. A quantidade de histamina livre calculada seria 1,6γ de histamina por cc, ao passo que o valôr obtido no ensaio descrito corresponde aproximadamente a 1,4γ de histamina. Os valôres são assim tão aproximados, que se póde concluir que praticamente toda a histamina que estava ligada, no composto, foi libertada pela hidrólise acida.

Experiências com o intestino isolado de cobaia — Os resultados obtidos fazendo agir os compostos descritos acima sobre o ileo isolado de cobaia foram perfeitamente concordantes com as experiências realizadas sobre a pressão arterial do gato. A figura 6 mostra uma experiência tipica realizada com um fragmento de ileo de cobaia suspenso em 4 cc de banho de Tyrode. Em (22) foi adicionado ao banho, 0,4 mg do composto acetilamino cinamil his-

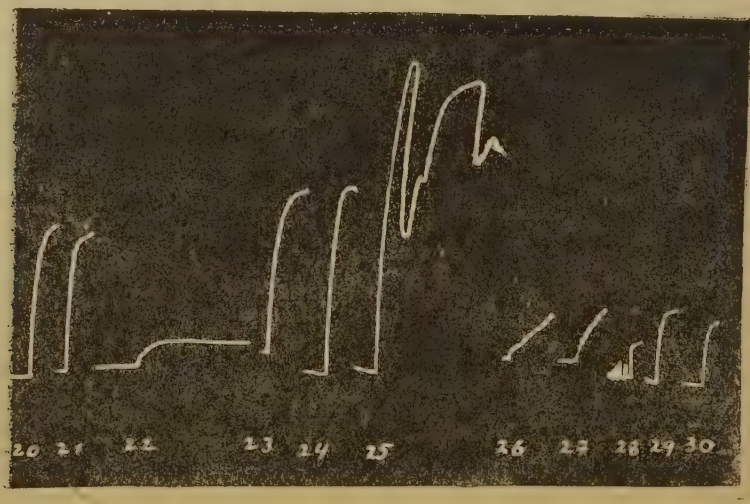



Fig. 6 — Experiências com o ileo de cobaia e a acetilamino cinamil histamina antes (22) e depois (25) da hidrólise acida. Explicação no texto.

tamina. Como se vê praticamente nenhum efeito produziu. Em (25) a mesma quantidade do composto, depois de sofrer hidrólise acida, foi adicionada. Uma reação forte e demorada se produziu imediatamente depois da adição. Em 20, 21, 23, 24, e 26 a 30, a mesma quantidade de histamina foi repetidamente adicionada (0,04γ). Póde-se ver tambem que, depois da reação produzida pelo hidrolisado (25), a mesma quantidade de histamina produziu reações menores, indicando que o musculo se mostrava parcialmente refratario a essas pequenas doses de histamina, fenomeno que é tipico da adição de doses fortes de histamina.

Experiências sobre a pele humana — Resultados perfeitamente comparaveis foram obtidos testando-se os compostos acima pela produção da reação típica da histamina, quando injetada intradermicamente em sêres humanos. Ordinariamente, antes da hidrólise os compostos produziam apenas ligeiras reações, que desapareciam desde que se usasse uma concentração conveniente. A mesma dose que antes da hidrólise não mais produzia reação, depois dela produzia entretanto, consideravel eritema e pápula.

Experiências na cobaia — Antes da hidrólise acida os compostos são praticamente inócuos quando injetados intravenosamente em cobaias. Injetamos cerca de 20 mgs da acetilamino cinamil histamina, sem produzir nenhum sintoma. Depois da hidrólise acida, entretanto, a injeção de 1 a 2 mgs do composto produz a morte de cobaias, com os sintomas típicos de envenenamento pela histamina.

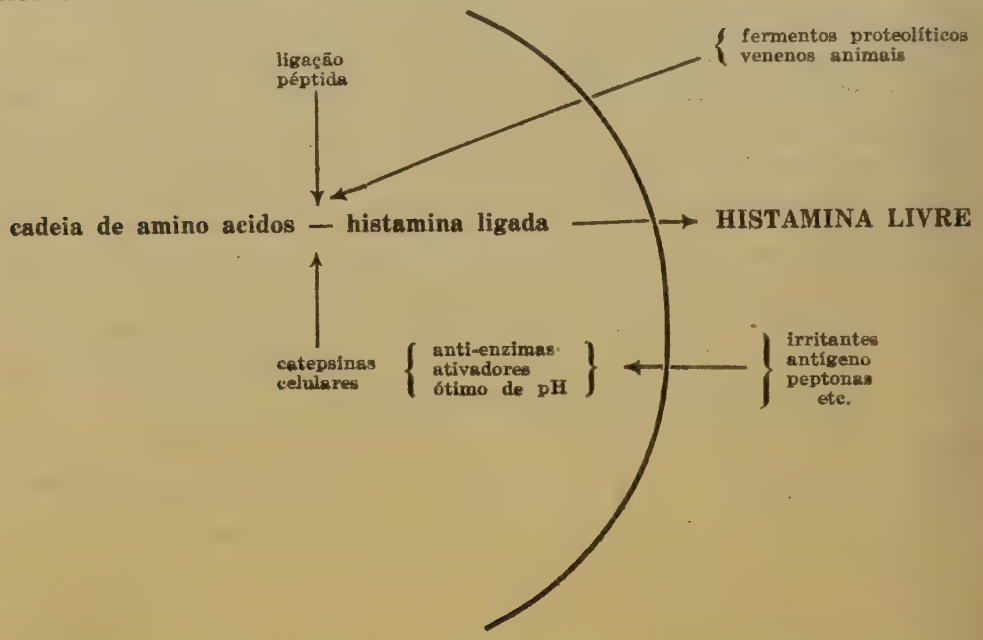
## DISCUSSÃO

Descrevemos neste trabalho a técnica de preparação de compostos simples de histamina com amino acidos naturais. Pelo estudo farmacológico por nós realizado e descrito acima, ficou bem claro o fato de que, a histamina perde as suas propriedades farmacológicas, quando entra em ligação péptida com o grupo carboxílico livre de amino acidos. Esses compostos pódem ser adicionados em doses relativamente altas a um banho de Tyrode contendo um fragmento de intestino de cobaia, sem que nenhuma reação se produza. Injetados em gatos, em doses altas, não produzem quéda da pressão arterial. Depois da hidrólise ácida, as ligações péptidas são rompidas e a histamina passa a exercer os seus efeitos farmacológicos típicos. No estado atual dos conhecimentos, é ainda um mistério a natureza das ligações da histamina com os constituintes celulares, mas o fato de que os fermentos proteolíticos libertam prontamente esta substância das suas ligações celulares parece indicar que a histamina se encontra nas células em ligação péptida com as cadeias de amino acidos das proteinas dos tecidos. Os compostos acima poderiam portanto representar modelos químicos da chamada histamina ligada, e a hidrólise desses compostos poderia indicar um dos mecanismos pelos quais essa substância é descarregada dos tecidos sob a ação de irritantes e no choque anafilático.

Recentemente, FELDBERG (7) admitiu que a libertação de histamina pelo antígeno no choque anafilático poderia depender de uma ativação das proteinases celulares. As células possuem fermentos

proteolíticos — as catepsinas — que são misturas complexas de enzimas que degradam proteinas. Essas catepsinas são ativas não só para a síntese das proteinas, como para o seu desdobramento. Elas se distinguem dos fermentos proteolíticos do tubo digestivo por algumas particularidades no modo de ação: 1) exigem certos ativadores, como a cisteina, o ácido cianídrico, o ácido ascorbico, etc.; 2) têm um ótimo de pH por volta de pH = 5; 3) podem estar bloqueadas por agentes enzimaticos, cujo modelo seria, por exemplo, a antitripsina do plasma sanguíneo. A descarga de histamina poderia depender portanto: 1) de uma ativação direta dos fermentos proteolíticos celulares; 2) de uma variação instantânea de pH para o lado acido; 3) de uma adsorpção ou inativação dos fatores anti-enzimaticos celulares.

Assim ativados, esses fermentos proteolíticos poderiam romper as ligações péptidas mais fracas, libertando substâncias ativas, como a histamina, ancoradas ao extremo da cadeia de amino acidos celulares. O esquema seguinte póde traduzir objetivamente essa cadeia de fenômenos:




E' entretanto digno de nota que os compostos estudados acima não realizam todas as condições da histamina ligada. Por exemplo, a simples ação dos precipitantes de proteinas, como acido tricloracético, calôr, etc. não é bastante para libertar a histamina ligada aos resíduos de amino acidos. As ligações da histamina nos compostos estudados não é tão frouxa como as ligações da histamina com as proteinas celulares, mas devemos considerar que esses compostos são apenas m o d e l o s da histamina ligada, e de maneira alguma representam as

verdadeiras conexões que possam existir entre a histamina e os complexos proteicos celulares. Essas ligações poderiam tornar-se mais frouxas, desde que fosse ampliada a cadeia de amino acidos. E' provavel que uma cadeia longa de amino acidos com a histamina ancorada num dos extremos ofereça maiores analogias com os complexos proteicos celulares em ligação péptida com a histamina. O problema químico póde consistir portanto em ampliar a cadeia de amino acidos, que será então conjugada quimicamente com a histamina.

## PREPARATION AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF SIMPLE COMPOUNDS OF HISTAMINE WITH AMINO ACIDS


### *Abstract*

*1) The technique of preparation of five compounds of histamine with several amino acids is described in detail. Acetyldehydrophenylalanyl histamine (I) has been synthesized by coupling the histamine with the azlactone of the acetylamino cinnamic acid. From that compound, the hydrogenated form, the acetyl d, l. phenylalanyl histamine (II) has been prepared by hydrogenation in presence of palladium black. Benzoyl l. tyrosyl histamine (III), carbobenzoxy l. tyrosil histamine (IV) and carbobenzoxy l. leucyl histamine (V) have been prepared by transforming the corresponding hydrazides into the respective azides, by treatment with sodium nitrite in a strongly acidified medium. Then the azide, in solution in ethyl acetate was coupled with histamine base dissolved in ethyl acetate.*

*2) The compounds were dissolved in saline, after the addition of an equivalent of HCl, when necessary. The solution obtained was neutralized and the pH made up to the pH of the Tyrode solution. Acid hydrolysis was performed by treating 10 mgs of the compound with 5 cc of concentrate HCl. The mixture was then boiled for one hour, the acid evaporated i n v a c u o and the crystalline residue taken up in distilled water and neutralized.*

*3) Effects on the blood pressure of the cat: Fig. 1, shows one experiment made with carbobenzoxy l. leucyl histamine. In 10, histamine (1γ) was injected, in 11, carbobenzoxy l. leucyl histamine (2 mgs) before hydrolysis, and in 12, the same compound (2 mgs) after hydrolysis, were injected. We can see the absence of effects produced by the compound and the shock produced by its hydrolysate. The effects of the latter were more pronounced than those produced by 200γ of histamine base (in 13). Fig. 2, shows the effect of three of these compounds injected in the cat, before acid hydrolysis. In 1, histamine (1γ), in 2, carbobenzoxy l. leucyl histamine (2 mgs), in 3,*

*carbobenzoxy l. tyrosil histamine (2 mgs) and in 4, benzoyl l. tyrosyl histamine (2 mgs) were injected. As we can see, the effects produced by all of the three substances before acid hydrolysis are slight and might be explained by traces of histamine still impurifying the preparations. Fig. 3, shows the effect of benzoyl l. tyrosyl histamine before (in 1) and after (in 2) acid hydrolysis. In both cases, an amount equivalent to 2 mgs of the compound was injected. In 3, histamine (50γ of the base) was injected. Fig. 4, shows a similar experiment performed with acetyldehydrophenylalanyl histamine. In 1, 2.4 mgs of the compound before acid hydrolysis and in 2, an amount corresponding to 0.5 mg of the same compound after hydrolysis were injected. In 3, 0.2 mg of histamine base was injected.*

*4) The estimation of the histamine liberated by acid hydrolysis (fig. 5) showed that almost all the histamine previously bound to the amino acid residues is set free by acid hydrolysis.*

*5) Experiments performed upon the isolated guinea pig gut, the human skin and on the intact guinea pig, have shown that the histamine is present in those compounds in a pharmacologically inactive form. After acid hydrolysis, however, this active substance is set free, exerting its characteristic biological effects.*

*6) The fact that histamine when entering in chemical combination with amino acids, loses its pharmacological properties is very interesting in view of the fact that histamine is present in the cells under an inactive form. The above compounds might represent a "model" of the so-called bound histamine, which is changed into free histamine under the action of irritants, proteolytic enzymes, animal poisons, etc. It is, however, worthy of noting that these compounds do not reproduce all the features of bound histamine. For instance, the simple interaction of protein precipitants, as trichloracetic acid, is not enough to set free the histamine, bound to these amino acid residues. The loose histamine linkage as verified in the living cells, might depend, for instance, on the amplitude of the amino acid chain connected to histamine. The chances are that a long polypeptide chain with histamine anchored to one of the ends, would be more likely to behave toward heating and protein precipitants, as living proteins do. Anyway, the study of simple models like those presented in this paper, might throw light into the problem of histamine liberation, in the living body. The reversal process, the capture of histamine by a free carboxyl group in the protein molecule might constitute a general procedure followed by the cell to detoxify the histamine.*

*7) On the basis of this discussion, a scheme is introduced in an attempt to visualize the possible connections of histamine with the cell proteins (pg. 110) and the chain reactions which might be involved in its liberation. Two distinct groups of histamine liberating substances might be clearly set forth:* a) *substances which would act indirectly by activating the cellular cathepsins, and* b) *substances like proteolytic enzymes and animal poisons which might act directly by rupturing the peptide linkages of histamine with the cell proteins.*

## BIBLIOGRAFIA


1 — Ahlmark, A., T. G. Kornerup and B. Tarras-Wahlberg — 1938 — Studies on the part played by the lungs with regard to histamine in the circulating blood. *Skand. Arch. f. Physiol.* **79**, 106-114.

2 — Alexander, H. L. and D. Bottom — 1940 — The failure of histaminase to protect guinea pigs against histamine and anaphylactic shock. *Journ. of Immunol.* **39**, 457-460.

3 — Bergmann, M. — 1939 — Some biological aspects of protein chemistry. *Journ. of the Mount Sinai Hospital* **6**, 171-186.

4 — Bergmann, M. and J. S. Fruton — 1941 — The specificity of proteinases. In: *Advances in Enzymology* **1**, 63-98. Intersc. Publ. Inc., New York.

5 — Best, C. H. and E. W. Mc Henry — 1930 — Inactivation of histamine. *Journ. of Physiol.* **70**, 349-372.

6 — Dragstedt, C. A. and M. Rocha e Silva — 1941 — Effect of trypsin upon blood histamine of rabbits. *Proc. of the Soc. f. exp. Biol. and Med.* **47**, 420-422.

7 — Feldberg, W. — 1941 — Histamine and anaphylaxis. *Ann. Rev. of Physiol.* **3**, 671-694.

8 — Rocha e Silva, M. — 1940 — Beitraege zur Pharmakologie des Trypsins. *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.* **194**, 335-361.

9 — Rocha e Silva, M. — 1941 — O choque tríptico. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo. **12**, 155-173.

10 — Rocha e Silva, M. and C. A. Dragstedt — 1941 — Observations on the trypan blue capillary permeability test in rabbits. *Journ. of Pharmac. and exp. Ther.* **73**, 405-411.

11 — Rose, B. and J. S. L. Browne — 1941 — Effect of histamine pretreatment on histamine shock in guinea pigs. *Journ. of Immunol.* **41**, 409-412.

# ARTRITE EM GALINHA PRODUZIDA POR "SALMONELLA PULLORUM"

POR

J. Reis

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 24-25

Diversas são as localizações até agora conhecidas da *Salmonella pullorum* no organismo das aves, sob forma de infecções crônicas. Entre elas destaca-se, por sua extrema raridade, a localização nas articulações, até hoje só duas vezes assinalada. A primeira dessas verificações é a de DURANT e MCDOUGLE, em 1932; a segunda é a de BEAUDETTE, em 1936. Em ambos os casos tratava-se de pintos.

Não conhecemos referência a artrite provocada por *S. pullorum* em aves adultas, isto é, desenvolvida depois de haver a ave atingido a maturidade.

Em 29 de abril de 1939 recebemos para exame uma galinha viva, mestiça, que demonstrava dificuldade de locomoção e em cujas articulações tibio-társicas algum tempo antes se haviam desenvolvido inchaços.

A articulação do lado esquerdo apresentava-se mais atacada que a outra. Ambas mostravam-se inchadas e cada uma era sede de cinco nódulos pouco precisos. Sentia-se nítida flutuação ao nivel desses nódulos. A pele apresentava-se integra.

A punção das articulações permitiu retirar abundante pús grosso, avermelhado ou acastanhado, cujo exame microscópico revelou numerosos piócitos, células grandes e mal diferenciadas, parecendo endoteliais, alem de monócitos com raras bactérias englobadas. As semeaduras desse pús, em placas de agar-sangue e de meio de Holt-Harris e Teague, deram culturas puras de *S. pullorum*.

O exame de sangue revelou polinucleose e moderada linfocitose. A hemocultura foi negativa.

O soro da galinha aglutinou nitidamente o antígeno que, para identificação de portadores de pulorose, é empregado no serviço para esse fim mantido no Instituto Biológico. O exame de sangue procedido nas 15 aves restantes do mesmo lote revelou mais três portadoras de pulorose, aparentemente normais.

Em 6 de junho do mesmo ano é a ave sacrificada. Abertas as articulações, observa-se intenso processo inflamatório, purulento, na sinovial; a cavidade sinovial acha-se sensivelmente dilatada, prolongada

em diversas bolsas e cheia de material purulento. O processo inflamatório estende-se aos tecidos fibroso e fibrotendinoso que reforçam a articulação, neles formando diversas bolsas de pús. E' geral o edema em todos os tecidos periarticulares.

O exame microscópico revela processo de sinovite purulenta: coleção de pús dentro da cavidade sinovial, descamação das células de revestimento da sinovial, dilatação e congestão acentuada dos vasos dessa membrana, dentro dos quais se nota abundância de pseudo-eosinófilos. Em torno dos vasos e nas malhas do tecido conjuntivo da sinovial há infiltração de células histiocíticas. A cápsula da articulação apresenta edema. Em todos os tecidos que revestem a articulação notam-se sinais gerais de inflamação (congestão, edema) e formação de abscessos.

O quadro geral é, pois, de uma panartrite.

O figado e o baço apresentam-se um pouco aumentados. O ovário, atrófico, mostra alguns folículos degenerados, contendo gema coagulada, em grumos. O rim apresenta certo grau de inchação, traduzido na sua lobulação mais acentuada que normalmente. Microscopicamente, só o rim mostra alterações apreciaveis, correspondentes a processo de tubulo-nefrite, com presença de numerosos cilindros hialinos.

De nenhum desses orgãos se isola a *S. pullorum*, apesar de abundantemente semeados em caldo.

## COMENTÁRIO

O interesse do caso aquí relatado consiste na verificação de uma forma de artrite, até agora não observada em ave adulta, em consequência de localização de *Salmonella pullorum*. Dada a existência de outros portadores de pulorose na mesma criação (3 em 15 aves), é muito provavel que a infecção haja sido contraida nos primeiros dias e que a localização na articulação haja sido tardia, depois de haver o germe permanecido em latência por longo tempo no organismo da ave.

Entre nós não são raras as artrites em aves. Em galinhas é particularmente frequente a artrite estafilocócica, de natureza purulenta, e que geralmente tende à cronicidade.

A cólera é pelos tratadistas apontada como causa de artrite purulenta em galinhas, constituindo essa uma das formas crônicas da referida moléstia (11). Entre nós, todavia, a artrite produzida por *Pasteurella avicida* é praticamente inexistente, a-pesar-de ser a cólera doença muito espalhada e encontradiça, seja sob forma aguda, seja sob forma inaparente.

Em nossa experiência os únicos e raros casos observados de artrite causada pela *Pasteurella avicida* não são espontâneos, mas consequentes a infecção experimental, por via nasal.

A tuberculose, já de si rara entre nós, contribue com contingente relativamente pequeno para o capítulo das artrites aviárias.

A gota, citada nos tratados como uma das causas mais comuns de artrite, entre nós ocorre quase exclusivamente sob forma visceral, sem localização articular, o que não deixa de ser fato curioso, dada a grande frequência da doença em nossas criações.

A artrite recentemente descrita por NOBREGA, e atribuida a *B. arthropyogenes* NOB., é de natureza purulenta, como a provocada por *S. pullorum*.

De natureza serosa é uma artrite das asas dos pombos-correio, de etiologia desconhecida, que a literatura refere sem grandes minúcias (4, 7). Ao mesmo tipo pertencem a artrite estafilocócica descrita em gansinhos por LUCET (osteo-artrite) e as demais referidas por HUTYRA e MARECK e REINHARDT como "paralisia de gansos e patos (ou marrecos)".

Carater nitidamente fibrinoso apresenta a artrite paratífica descrita por BECK e MEYER e por COHRS em pombos, a qual se acompanha, aliás, de lesões muito típicas nos músculos (focos de necrose). Na Bélgica, LAHAYE descreve, como manifestação frequente em pombos atacados de salmonelose *(S. typhimurium)*, o "mal d'aile", que corresponde a artrite radio-carpiana. Esta afecção parece de ocurrência comum nos Estados Unidos, onde, segundo BEAUDETTE, é conhecida por "lumps" e geralmente causada por *S. typhimurium*, embora EMMEL atribua a *S. schottmülleri* os casos por ele estudados; pela descrição de BRUNNETT, que se refere ao material retirado das articulações como "straw colored, viscid", parece razoavel encaixar o caso por ele examinado no grupo das artrites fibrinosas, como a de BECK e MAYER.

Em S. Paulo, a artrite de pombos-correio causada por *S. typhimurium* tem sido por nós algumas vezes observada.

## ARTHRITIS IN A FOWL DUE TO "S. PULLORUM"

*Abstract*

*This paper contains a report on one case of arthritis in a mature fowl which was due to S. pullorum. No other location of the microbe in the organism of the fowl could be detected.*

## BIBLIOGRAFIA

1. BEAUDETTE, F. R. — 1936 — Arthritis in a chick caused by Salmonella pullorum. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, n. s. 42 (1): 89-91.

2. Beck, A. e Meyer, E. — 1926-27 — Enzootische Erkrank. der Tauben durch Bakt. der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. *Zeit. f. Infktkr. Haust.*, **30: 15-41.**
3. Brunnett, E. L. — 1930 — Paratyphoid infection of pigeons. *Cornell Vet.*, 20: 169-176.
4. Cohrs, P. — 1929 Ernst Joest's Handb. d. Spez. pathol. Anat. der Haust.; vol. 5: 636. Berlim, R. Schoetz.
5. Durant, A. J. e Mc Dougle, H. C. — 1932 — Pullorum disease infection of the leg joints in baby chicks. *Vet. Med.*, 27: 357.
6. Emmel, M. W. — 1929 — Arthritis in the pigeon caused by Salmonella schottmülleri. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, n. s. 28 (3): 369-370.
7. Hutyra, F. e Mareck, J. — 1922 — Spez. Path. und Therap. der Haust., 6.ª ed., vol. 3: 512-513 (G. Fischer, Jena).
8. Lahaye, J. — 1928 — Maladies des volailles. Steinmetz — Haenem, Remouechamps — : 235.
9. Lucet, A. — 1892 — De l'ostéo-arthrite aigue infectieuse des jeunes oies. *Ann. I. Pasteur*, 6: 841-850.
10. Nobrega, P. — 1940 — Artrite em galinha produzida por Bact. arthropyogenes. *Arq. I. Biol.*, S. Paulo, 11: 323-332.
11. Reinhardt, R. — 1930 — Die path. anatom. Veränder. bei den spont. Krankh. der Hausvögel. *Erg. Allg. Path.*, 23: 553-708.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

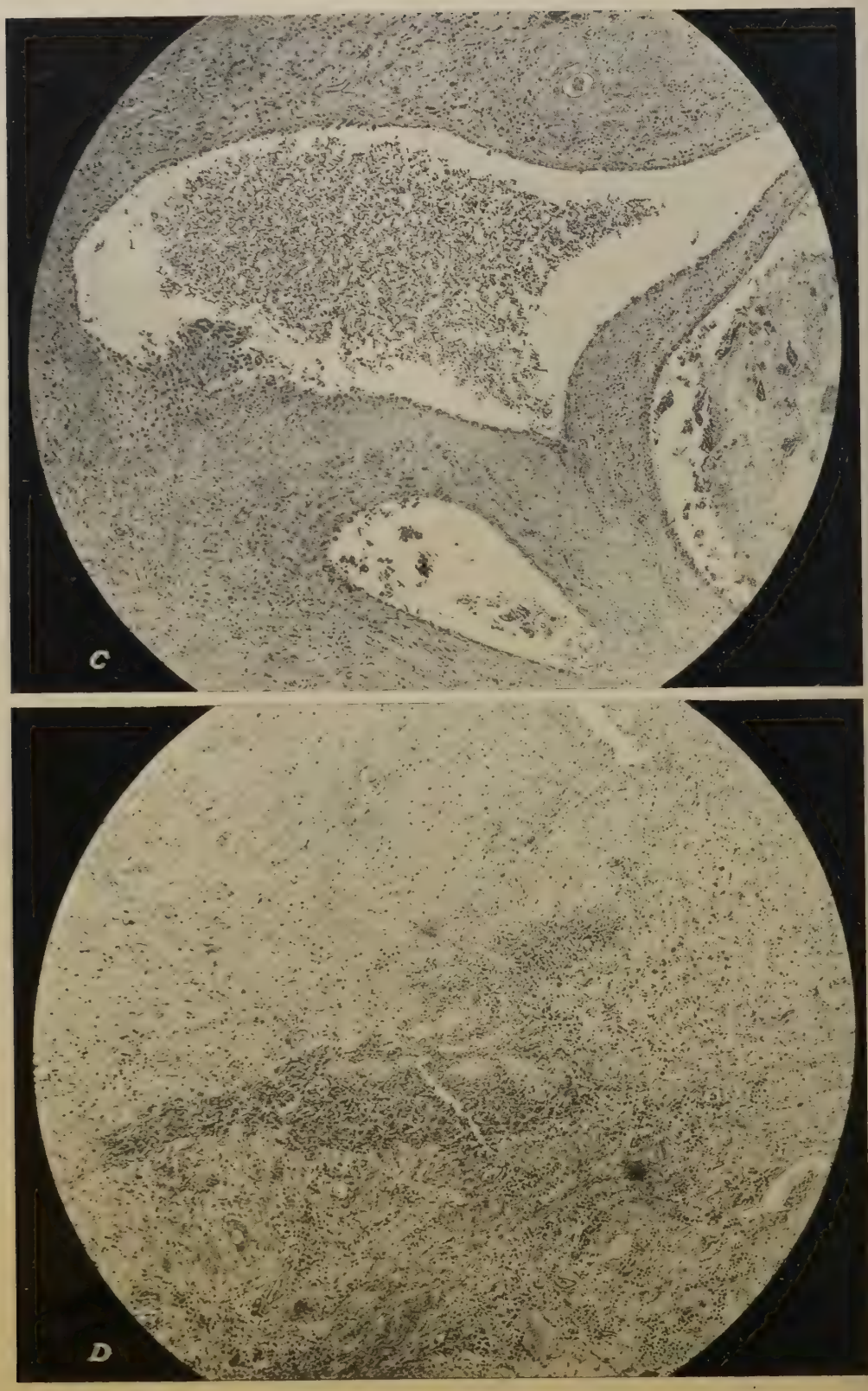
### Estampa 24

Fig. *A* — Articulação tíbio-társica, face anterior.
Fig. *B* — Articulação tíbio-társica, face posterior.

### Estampa 25

Fig. *C* — Corte da articulação, vendo-se o processo de sinovite.
Fig. *D* — Corte da articulação, mostrando os tecidos peri-articulares com intensa infiltração constituida predominantemente de pseudo-eosinófilos e células histiocíticas.

*A* *B*


C
D

Vol. 13 — Art. 12 Dezembro de 1942

# ESTUDO DO ORGANISMO CAUSADOR DA BACTERIOSE DA MANDIOCA

POR

J. Franco do Amaral

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 26-27

## INTRODUÇÃO

Nos trabalhos da Secção de Fitopatologia, foi verificada a ocurrência da bacteriose da mandioca, causada por um organismo de grande poder patogênico para essa cultura. Como os seus caracteres culturais e fisiológicos não correspondem às amostras já estudadas, tentamos por meio deste trabalho experimental esclarecer melhor a questão.

## ISOLAMENTO

Do mandiocal da Secção de Fitopatologia em Tremembé atacado por bacteriose pudemos, depois de diversas tentativas, isolar um germe em cultura pura (346E) e com ele obter as provas de patogenicidade. O isolamento foi conseguido da haste, por enriquecimento em caldo e subsequente semeadura em placas de agar simples (a 30°C.), onde se notou bom desenvolvimento em 48 horas. Depois de feita a desinfecção da casca pelo sublimado corrosivo ou pelo fogo, foram retirados da superfície esterilizada pequenos pedaços de tecidos, colocados em caldo simples e incubados por 18 horas a 30° na estufa. Uma vez verificado o crescimento do germe pela turvação do meio, foram feitas as placas pelo processo usual de isolamento, que foi obtido com facilidade, da haste e do pecíolo, e mais dificilmente, da goma, por apresentar, esta, contaminações. Com a técnica citada conseguimos obter os seguintes reisolamentos: $346E_1$ — $346E_2$ — $346E_3$ — $346E_4$ — $346E_5$ — de diferentes plantas inoculadas.

## INOCULAÇÃO

Os trabalhos experimentais foram realizados com séries de 5 plantas inoculadas e 2 testemunhas. Essas inoculações foram repetidas 5 vezes, em períodos diversos, e sempre conseguimos 100% de resultados positivos.

Todos os trabalhos de inoculações foram realizados com plantas em vasos, provenientes de estacas fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas, com atestado de sanidade.

TRABALHO EXPERIMENTAL

| Variedades | Data | Plantas inoc. | Plantas test. | Resultados | Período de incubação |
|---|---|---|---|---|---|
| Vassourinha . . . . . | 26/3/42 | 5 | 2 | 100% positivo | 11 dias |
| Vassourinha . . . . . | 27/3/42 | 5 | 2 | 100% » | 11 dias |
| Manipeba . . . . . | 8/4/42 | 5 | 2 | 100% » | 13 dias |
| Cambáia . . . . . | 15/4/42 | 5 | 2 | 100% » | 11 dias |
| Gemedeira . . . . . | 15/5/42 | 5 | 2 | 100% » | 30 dias |

A primeira manifestação da doença é verificada pelo aparecimento da goma, exudada em diversos pontos da planta inoculada, seguida por murchamento dos folíolos, conservando o pecíolo rígido preso a planta por algum tempo. Com o desenvolvimento da doença o pecíolo cae, ficando somente a planta, com haste seca. O período de incubação variou de 11 a 13 dias no verão, alcançando 30 dias no inverno. As testemunhas inoculadas com água esterilizada, por incisão, apresentavam um calo cicatricial, passado esse período, sem os sintomas da murcha. A bacteriose é uma doença do tipo vascular, pois os germens são encontrados dentro dos vasos liberianos e lenhosos, provocando um escurecimento da região cortical e da periferia do cilindro central da planta. Em corte longitudinal da rama atacada esse escurecimento pode ser visto sob a forma de pequenas estrias pretas.

## DESCRIÇÃO DO ORGANISMO (*)

### MORFOLOGIA

O germe se apresenta sob a forma de pequenos bastonetes, medindo 1,6 a 2,0 por 0,6 a 0,9 μ com extremidades arredondadas, isolados ou dois a dois, não formando cadeias. Sua mobilidade em gota pendente não é facilmente observada; foi verificada com o auxílio do meio semi-sólido de Hitchens. E' monotrico, isto é, possue um só cílio, numa das extremidades (ZETTNOW mod. BONGERT.); cora-se facilmente pelas anilinas; é gram negativo. Não possue cápsula (HISS) e não dá formação a esporos.

### CARACTERES CULTURAIS

Placa de agar simples — Depois de 48 horas, nota-se o aparecimento de pequenas colônias de cerca de 2 mm. de diâmetro, circulares, lisas, brilhantes, convexas, de bordos regulares, branco-leitosas, opacas e de consistência viscosa (pH. 7,2 temp. 30°).

(*) Os métodos e meios de cultura usados neste estudo, são os descritos no "Manual da Sociedade Americana de Bacteriologia".

Agar inclinado — Desenvolvimento moderado, brilhante, branco-leitoso, inodoro e consistência viscosa.

Caldo simples — Crescimento abundante, provocando a turvação do meio, não dando formação de anel ou película, mas produzindo grande quantidade de sedimento preso ao fundo do tubo.

Placa de gelatina — Colônias pequenas, crateriformes, de 1 a 2 mm. de diâmetro, liquefazendo a placa em 12 dias (temp. ambiente, cerca de 25°).

Gelatina picada — Crescimento na superfície, produzindo liquefação estratificada a partir do oitavo dia (estufa 30°).

Batata — Bom desenvolvimento, branco, úmido, brilhante e viscoso.

Sôro de Loeffler — Crescimento moderado, produzindo a digestão do meio após 20 dias.

## FISIOLOGIA

A sua exigência em relação ao oxigênio livre foi verificada por emulsão da cultura em agar semi-sólido, obtendo-se crescimento somente na superfície do tubo, razão pela qual o germe é considerado aeróbio estrito. Tem bom desenvolvimento entre 28° a 30°, com concentração ótima de ions de hidrogênio entre 7 a 7,4. Conserva sua patogenicidade em meio de batata, por bom tempo; amostras inoculadas com mais de um mês deram resultados positivos.

Indol — Não produz (prova em água de peptona após 6 dias a 30°, reativo Ehrlich — Böhme).

Hidrogênio sulf. — Negativo (agar chumbo 10 dias, 30°).

Amônia — Negativo (água de peptona — reativo Nessler 5 dias a 30°).

Nitratos — Não reduz (água nitrada 5 dias, 30°, reativo Tittsler).

Leite — Peptonisa em 5 dias, sem provocar a sua coagulação.

Leite litmus — Peptonisa em 5 dias, alcalinizando-o.

Acetil-metil-carbinol — Negativo (glicose fosfatada 5 dias, 30°, reativo Voges Proskauer).

Azul metileno — Não reduz em 25 horas (caldo simples 24 horas, 30°, azul de metileno a 1%, 1 gota, incubado novamente a 30°).

Vermelho de metila — Negativo (água de peptona a 30°, 5 dias).

Açúcares — Para as provas de fermentação foram usados os seguintes açúcares, com indicador Andrade: sacarose, lactose, ara-

binose, glicose, maltose, salicina, xilose, manita, levulose, galactose, dulcita, manose, glicerina, inosita, inulina e sorbita.

Semeado o germe em todos esses açúcares, obtivemos bom crescimento, chegando a provocar a turvação do meio, sem contudo haver fermentação (acidez ou gás), mesmo depois de passado um período de 20 dias.

A m i d o — A hidrólise total do amido se processa em 5 dias à temperatura de 30° (caldo simples mais amido soluvel (Schering) a 0,2% — prova com iodo incolor — Reduz o licor de Fehling — vermelho tijolo).

Por ser básica a prova do amido na identificação das espécies do gênero *Phytomonas*, procuramos, por meio de diversos testes, comprovar os resultados da hidrólise. Para verificar a intensidade dessa ação usamos o meio de caldo em diferentes concentrações de amido soluvel até a concentração de 5% e constatamos a hidrólise total no fim de 15 dias. Não tendo sido possivel determinar, no caldo simples e amido, o produto final da hidrólise por meio da fenilhidrasina, usamos as seguintes soluções aquosas de amido: 1%, 2,5% e 5%, havendo ótimo crescimento de germe e hidrólise total em 5 dias em qualquer das concentrações; neste hidrolisado foi então possivel obter os cristais de osazonas característicos da glicose. (*)

A mesma hidrólise foi verificada com o filtrado da cultura em caldo simples, indicando a existência de uma exoenzyma termolabil.

Todas as provas acima foram efetuadas com germes isolados e reisolados das experiências realizadas nas nossa Secção, onde sempre obtivemos concordância nos resultados dos exames morfológicos, culturais e fisiológicos.

## DESCRIÇÃO TÉCNICA

O organismo tem a forma de pequenos bastonetes com extremidades arredondadas, ocorrendo só ou ao pares. Tamanho médio 1,8 por 0,7 μ. E' movel por um cílio polar, gram negativo; tem bom crescimento entre 28 a 30°, e aeróbio; não possue cápsula nem esporos. Em placas de agar as colônias são circulares, lisas, brilhantes, convexas, de bordos regulares, branco-leitosas, opacas e de consistência viscosa. O organismo liquefaz gelatina e sôro de Loeffler. Não reduz nitratos, e as provas de Indol, amônia, vermelho de metila, Voges Proskauer, foram negativas. Hidrolisa o amido em 5 dias e não fermenta os seguintes açúcares: lactose, sacarose, glicose, maltose, salicina, xilose, manita, levulose, inulina, sorbita, galactose, arabinose, rafinose, dulcita, manose, glicerina e inosita.

---

(*) Verificação de C. H. FLORENCE, da Secção de Bioquímica, a quem deixamos aqui consignados os nossos agradecimentos.

TABELA 1

CARACTERES DIFERENCIAIS

| | Cultura 346E. | *Bacterium manihotus* (Drummond-Hipólito) | *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar) Viegas. |
|---|---|---|---|
| Germe | Bastonetes 1,6 a 2,0 × 0,6 a 0,9 μ, movel, gram negativo. | Bastonetes 1,0 a 4,6 × 0,4 a 1,2 μ, dando cadeias bastante movel; gram negativo. | Bastonetes 1,4 a 2,8×0,35 a 0,93 μ, provavelmente movel; gram negativo. |
| Caldo | Abundante crescimento, turvando o meio com depósito viscoso. | Desenvolvimento pequeno ou regular, dando película na superfície com depósito no fundo do tubo. | Turvação com anel granular. |
| Leite | Peptonisa sem coagulação em cinco dias. | Coagulação total em cinco dias. | ——— |
| Litmus | Peptonisa, alcalinizando-o. | ——— | Peptonisa e reduz em 3 ou 4 dias. |
| Nitratos | Não reduz. | Reduz. | Não reduz. |
| Hidrog. Sulf. | Negativo. | ——— | Positivo. |
| Açúcares | Crescimento abundante e regular; não fermenta açúcar (acidez ou gás). | Crescimento irregular. Tendência para fermentar galactose. | Crescimento fraco. Fermenta ligeiramente: glicose, galactose, levulose, fructose, xilose, maltose e sacarose. |
| Amido | Hidrólise total em 5 dias. | Não hidrolisa. | Não hidrolisa. |

De acordo com o nosso estudo, verificamos estar diante de um organismo do gênero *Phytomonas*, por ser patógeno de planta, apresentar bastonetes e ser monotrico (BERGEY 1939).

Como os caracteres descritos não concordam em sua totalidade com nenhuma das espécies patogênicas para *Manihot utilissima* POHL (tabela 1), torna-se necessário um estudo comparativo dos organismos já estudados, para verificar se realmente estamos em presença de uma nova espécie.

## A STUDY OF THE ORGANISM RESPONSABLE FOR THE BACTERIOSE OF THE CASSAVA

*Abstract*

*This bacteriosis is a vascular disease causing a wilt of cassava (Manihot utilissima Pohl). It attacks a great number of varieties and is of economic importance where it appears.*

*The pathogenicity of the bacterium was proved experimentally with six different isolates. The varieties "vassourinha", "manipeba", "cambaia" and "gemedeira" were all affected with the disease when inoculated.*

*Morphology: — The microorganism appears as a motile rod, with rounded ends, 0.6 μ to 0.9 μ in diameter by 1.6 μ to 2 μ in length. Gram-negative. Does not form spores. Monotrichous flagella fairly easily stained. Agar plate — 48 hrs. 30° C. Round colonies, 2-3 mms. in diameter, raised, with glistening surface; edge entire; viscid consistency; milk white color. Broth — 48 hrs., 30°C. Dense turbidity, with abundant viscid sediment. Biochemical — Good growth in sugars, but no fermentation. Hydrolysis of starch: complete, not only with cultures, but also with filtrates from liquid media cultures. $H_2S$, indol, $NH_3$ and nitrate reduction negative, gelatine liquefaction beginning on the 8th day. Milk digested, without coagulation; L. M., peptonization, no discoloration.*

*The organism is classified as a Phytomonas. Further work on the precise identification of the species will be reported later.*

## BIBLIOGRAFIA

ANÔNIMO — 1923 a 1942 — Manual of methods for "Pure culture Study of Bacteria" (Editado pela Soc. Americana de Bacteriologia) Geneva, N. Y.

BERGEY, D. H. et al. — 1939 — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 5.ª edição pgs. 142, 419 e 68. The Willians & Wilkins Company — Baltimore — U. S. A.

BONDAR, G. — 1912 — Uma nova molestia bacteriana das hastes da mandioca. *Chacaras e Quintais.* S. Paulo. 5:15-18.

BONDAR, G. — 1915 — Molestia bacteriana da mandioca. *Bol. Agr.*, São Paulo, 16:513-524.

BONGERT, J. — 1927 — Bakteriologische Diagnostik der Tierseuchen, 7.ª edição, pp. 41-43 Richard Schoetz — Berlim.

BURKHOLDER, W. H. — 1930 — The Genus Phytomas. *Phytopathology*, 20:1-24.

BURKHOLDER, W. H. — 1942 — Three bacterial plant pathogens: Phytomonas caryophylly sp. n., Phytomonas alliicola sp. n., e Phytomonas manihotis (Arthaud-Berthet et Bondar) Viegas. *Phytopathology*, 32:146-148.

DRUMMOND, O. A. & HIPÓLITO, O. — 1941 — Notas sobre a bacteriose da mandioca. Bol. N.º 4, Fevereiro. *Escola Superior Agricultura e Veterinaria.* Minas Gerais.

DRUMMOND GONÇALVES, R. — 1939 — A bacteriose da mandioca no Vale do Paraíba. *O Biologico*, São Paulo, 5:117-118.

ELLIOT, C. — 1930 — Manual of Bacterial Plant Pathogens. p. 61. Baillière, Tindall and Cox — London.

SALLE, A. J. — 1939 — Fundamental Principles of Bacteriology. 3.ª edição McGraw — Hill Book Company, Inc. New York.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 26

Fig. *A* — Planta inoculada com a cultura 346E, apresentando os sintomas típicos da bacteriose após 20 dias da inoculação.

Fig. *B* — Placa de Agar-Amido mostrando a hidrólise parcial em 48 horas a 30°C. A cor branca indica a parte hidrolizada pelo germe e a escura (azul) a reação do iodo com o amido. (Tamanho natural).

(D. França fot.)

Estampa 27

Fig. *C* — Corte transversal dos vasos lenhosos atacado por bacterias em planta inoculada. × 410.

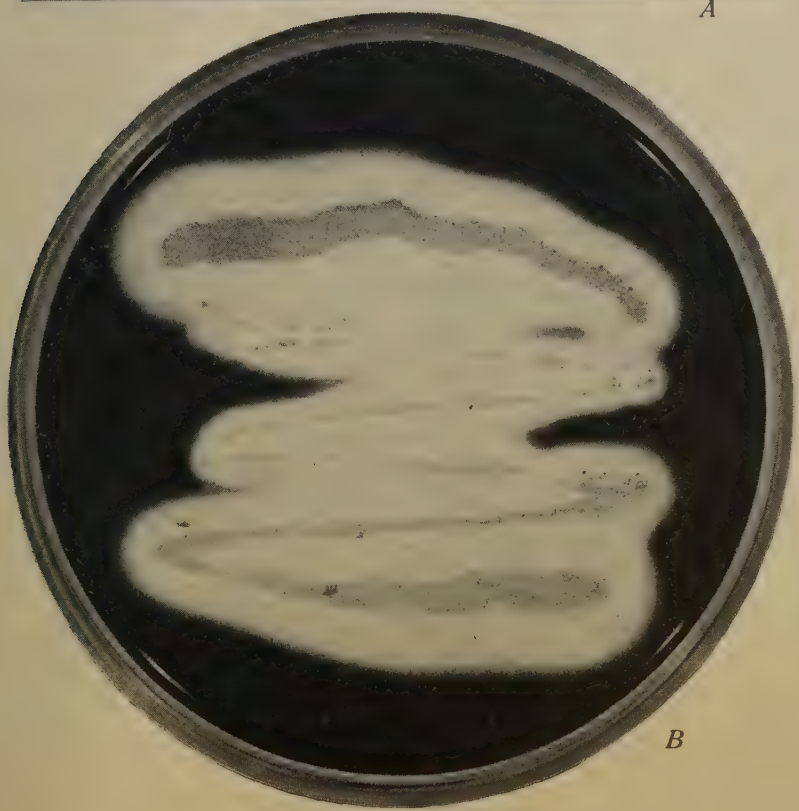
Fig. *D* — Detalhe da Fig. *C*. × 750.

Fig. *E* — Lâmina da cultura 346E colorida pelo método de gram. × 1030.

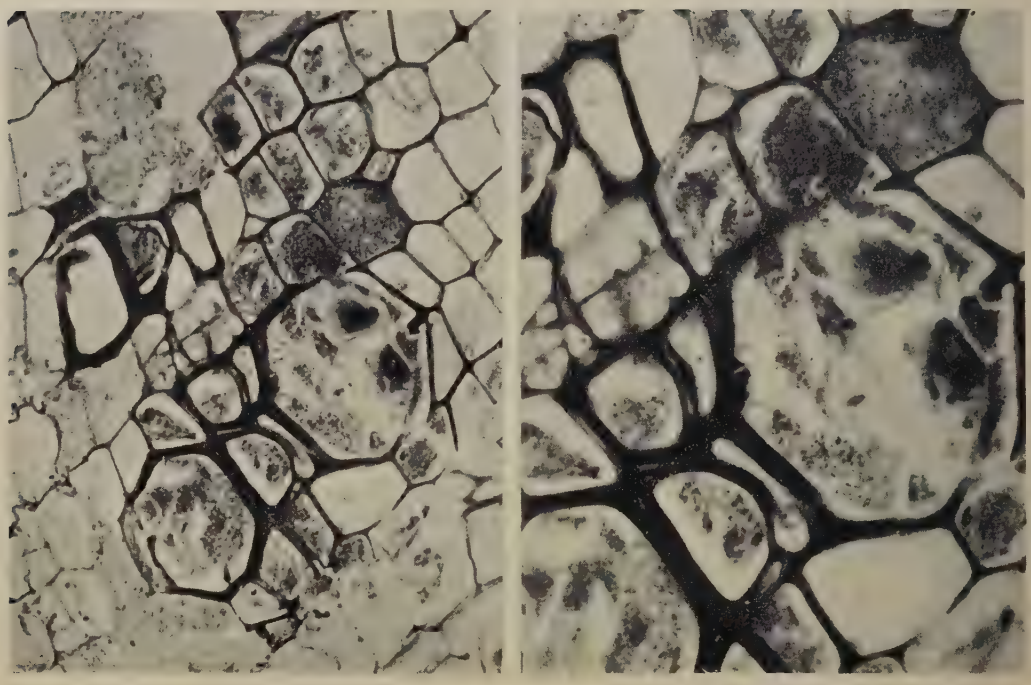
Fig. *F* — Coloração de cílios pelo método de ZETTENOW mod. BONGERT. × 2230.

(A. Federman fot.)

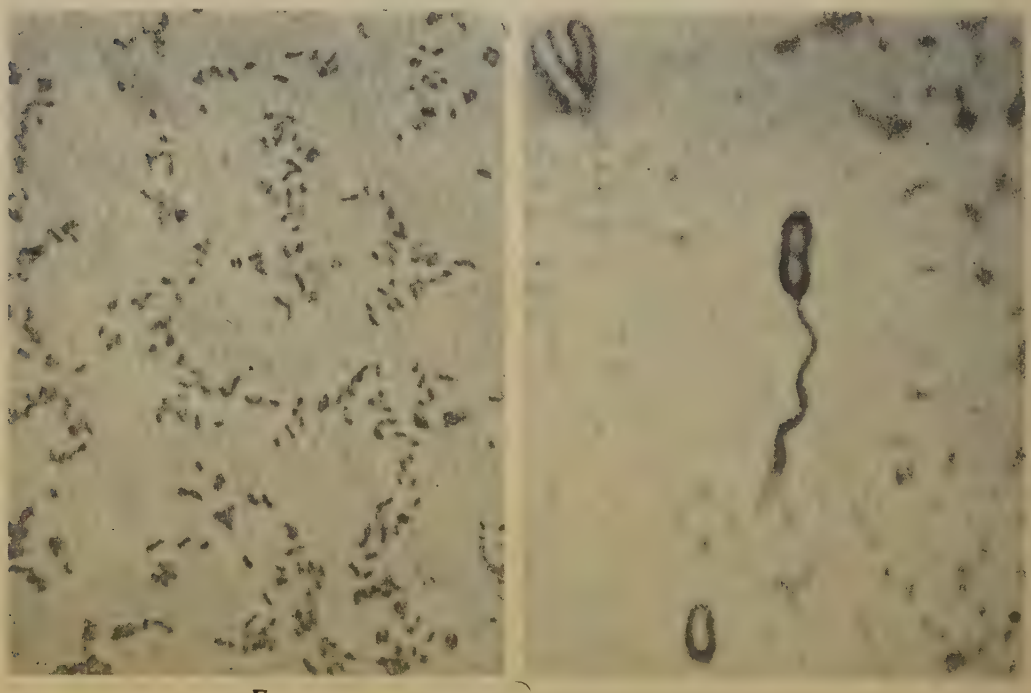
*A*



*B*



*C* *D*



*E* *F*

Vol. 13 — Art. 13 Dezembro de 1942

# ESTUDOS FEITOS COM UM SEGUNDO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL DO CAMONDONGO ENCONTRADO NO INSTITUTO BIOLOGICO DE S. PAULO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 28-31

Em princípios de Setembro de 1938 foi retirada da creação de camondongos uma fêmea adulta que apresentava um tumor subcutâneo medindo cerca de 2,5 cms. de diâmetro, na região inguinal esquerda. Ao córte, esse tumor mostrava pequenos cistos cheios de líquido claro, no meio de um tecido compacto com áreas avermelhadas.

O tumor foi registrado no arquivo da Seção de Anatomia Patológica, para exame microscópico, sob número 5.221, e designado com o nome de segundo adenocarcinoma transplantavel. Histologicamente apresenta os caracteres típicos de um adenocarcinoma mamário e tem a particularidade de mostrar em diversas áreas elementos epiteliais difusamente distribuidos como trabéculas sólidas, separadas entre si por grandes cavidades venosas. As porções do tumor em que os elementos epiteliais se distribuem em ácinos são relativamente raras.

Além dos elementos epiteliais, o tumor possue um estroma conjuntivo cuja densidade é bastante variavel. Os elementos epiteliais são pequenos e somente em alguns campos exibem carater cúbico ou cilíndrico. No geral são quasi exclusivamente representados por núcleos redondos e vesiculosos tendo muitos grânulos de cromatina. O protoplasma é muito pouco visivel. O retículo argentófilo do tumor tem os caracteres próprios dos neoplasmas desse tipo.

Inoculações — O tumor encontrado foi colhido asepticamente e dividido em 17 pedaços de cerca de 3 mms. de diâmetro, sendo inoculado em 17 camondongos adultos pertencentes à mesma colónia em que apareceu o tumor. Dos enxertos resultaram 5 tumores novos com os mesmos caracteres microscópicos que os do tumor original. Foram feitas com esses 5 tumores novas passagens que deram uma incidência variavel entre 20% e 100% de resultados positivos.

Em 15 de Abril de 1941 o tumor já contava 35 passagens em série.

Caracteres evolutivos do tumor. — Os fragmentos inoculados que dão novos tumores, dentro de uma semana já apresentam certo desenvolvimento, percetivel pela palpação, sob a fórma de pequenos endurecimentos subcutâneos. Com 15 dias os casos positivos já mostram nódulos de cerca de 1 cm. de diâmetro. Da terceira semana em diante os novos tumores se desenvolvem rapidamente. Com um mês, geralmente têm o tamanho de uma noz. Às vezes a pele que os recobre se necrosa e os animais entram rapidamente em caquexia. A morte geralmente ocorre entre a quinta e a oitava semana. A necrópsia dos portadores de tumor que morrem espontaneamente nesse período mostra necrose do tecido tumoral e grande emagrecimento. As metástases são excepcionais e, quando se formam, interessam apenas os pulmões.

Variação observada no aspecto microscópico — Da quarta passagem em diante os tumores começaram a apresentar nítida mudança no seu aspecto histológico. Ao invéz do carater acinoso inicial os elementos epiteliais passaram a se distribuir difusamente em grossas traves separadas entre si por cavidades vasculares muito grandes e de paredes finas. Os epitélios que formam essas traves apenas num ou noutro campo se reunem em volta de pequenas cavidades esboçando glândulas. Porisso mesmo, o tecido, que primitivamente era frouxo, passou a ser denso, apesar da sua grande vascularização. Esse novo carater microscópico continuou a manter-se inalterado da décima passagem em diante.

Desenvolvimento dos enxertos do tumor — O estudo microscópico dos fragmentos inoculados mostra diversos fatos interessantes. Logo depois que se introduz o inóculo na galeria feita para o enxerto no tecido subcutâneo, entre o inóculo e as paredes da galeria, aparece um espaço cheio de líquido albuminoso, com hemácias e raros mononucleares. Aos poucos esse espaço vai desaparecendo, substituido por um tecido conjuntivo, a princípio frouxo e depois denso, formado quasi exclusivamente por fibroblastos e por elementos mononucleados grandes. Nesse tecido vêm-se capilares de paredes muito finas. As células do inóculo que ficam na parte central entram rapidamente em necrobiose e acabam formando um sequestro. Enquanto isso, as células periféricas do inóculo que ficam em contato com o líquido albuminoso acima referido, ou que mais tarde tocam o tecido conjuntivo que substitue esse líquido, vão proliferando e em pouco tempo formam pequenas ilhotas irregulares de células epiteliais em crescimento franco. E' interessante notar, dentro dessas ilhotas, o aparecimento de pequenas cavidades vasias, muito menores que ácinos,

em geral cercadas por tres ou quatro células, mas tambem formadas, às vezes, no protoplasma de um único elemento epitelial e que parecem ter a função de favorecer a passagem dos líquidos nutritivos necessários ao desenvolvimento do tumor. As células dessas ilhotas continuam a se multiplicar formando prolongamentos irregulares que se infiltram pelos tecidos visinhos. Mais tarde, aumentadas no seu tamanho, acabam por se reunir, originando grandes massas neoplásicas com septos conjuntivos em seus interstícios. Por fim aparecem fócos de necrose na parte central dessas massas, enquanto na periferia o processo de proliferação continúa. Raramente as partes necrosadas se liquefazem, e então o tumor se transforma num pseudocisto. Como dissemos acima, a pele que cobre o tumor tambem se necrosa, porém essa necrose é seca e não resulta na exulceração dos tecidos.

Resistência de certos camondongos ao crescimento dos enxertos — A irregularidade de resultados observada nas primeiras inoculações era um fenomeno que poderia ser explicado por uma vitalidade maior ou menor dos fragmentos usados nas inoculações. A esse respeito era, portanto, admissivel que, se a causa do fracasso de certos enxertos fosse a deficiência de vitalidade do material inoculado, uma nova inoculação feita com inóculos melhores deveria dar resultado positivo. Para verificar se era isso o que acontecia, foram tomados diversos grupos de camondongos em que uma ou duas inoculações anteriores já haviam fracassado. Esses camondongos eram inoculados novamente com pedaços de tumor recentemente colhido e os resultados observados durante vários meses. De 24 camondongos submetidos a uma terceira inoculação depois de resultarem negativas duas outras, apenas um apresentou um tumor. Como se vê na tabela 1, a maioria dos resultados indica que o fracasso de uma inoculação depende em grande parte da resistência do animal inoculado. A natureza dessa resistência ainda é pouco conhecida. Estudos feitos por MORPURGO e DONATI (1) com um sarcoma transplantavel do rato tendem a demonstrar que a imunidade contra os tumores transplantados não é um fenomeno passivel de transmissão segundo as leis da hereditariedade. BESREDKA e GROSS (2), numa primeira série de experiências, verificaram que um sarcoma do camondongo que crescia facilmente sob a pele, se desenvolvia até certo ponto para depois involuir, quando enxertado dentro da própria pele, isto é, no derma. Prosseguindo em seus estudos, mais tarde esses dois autores admitem, numa comunicação, que tanto o sarcoma de ROUS, como o sarcoma de camondongo e o carcinoma de BROWN-PEARCE, do coelho, são passiveis de serem absorvidos pela pele, creando uma imunidade antineoplásica.

SYMEONIDES (3), do Instituto Patológico de Berlim, e um dos ultimos pesquizadores que se ocuparam com o problema, acha que é possivel provocar uma imunização antineoplásica em animais, de grau variavel conforme a virulência, a malignidade e outros fatores próprios do tumor empregado para o tratamento imunizante.

TABELA 1 — RESISTÊNCIA DE CERTOS CAMONDONGOS À INOCULAÇÃO DO TUMOR

| N.º da experiência na 1.ª inoculação do tumor | N.º de camondongos que resistem à 1.ª inoculação | 2.ª inoculação | | 3.ª inoculação | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Resultados positivos depois de 4 meses | Atividade do material usado na 2.ª inoculação (*) | Resultados positivos depois de 4 meses | Atividade do material usado na 3.ª inoculação |
| 546 | 6 | 0 | 83% | 0 | 100% |
| 547 | 4 | 0 | 50% | 0 | 40% |
| 554 | 3 | 0 | 80% | 0 | 100% |
| 556 | 3 | 0 | 80% | 0 | 100% |
| 562 | 2 | 0 | 80% | 0 | 40% |
| 559 | 3 | 0 | 80% | 1 | 20% |
| 565 | 3 | 0 | 40% | 0 | 20% |

(*) A atividade dos enxertos é indicada pelas porcentagens de resultados positivos após as inoculações do material em camondongos usados como testemunhas.

Conservação da atividade do tumor fóra do organismo — Mais pelo interesse prático do que pelo lado especulativo, foram feitas diversas experiências com o fim de verificar até quanto tempo o tecido tumoral retirado dos camondongos ainda conservava a propriedade de reproduzir o tumor.

Conservação da atividade em temperatura baixa — As experiências para verificar a ação conservadora do frio foram feitas na camara de uma geladeira, à temperatura de 2° C. Depois de retirados asepticamente, os tumores eram divididos em duas metades. A primeira era usada logo depois de colhida, para as inoculações testemunhas. A segunda metade era levada à geladeira e aí mantida durante prazos diferentes, antes de ser inoculada.

A tabela 2 resume os detalhes principais dessas experiências.

Vê-se, pelos resultados, que, quando guardado em temperatura baixa durante um período de 15 dias o tecido tumoral ainda conserva a propriedade de dar origem a novos tumores pela sua inoculação. Um fato que parece paradoxal e que se observa com certa frequência em experiências deste tipo, é o dos tumores deixados em temperatura baixa durante vários dias darem maior proporção de resultados positivos quando inoculados.

TABELA 2 — AÇÃO CONSERVADORA DO FRIO SOBRE A ATIVIDADE DO TECIDO TUMORAL

| EXPERS. | N.º de dias em que o tumor foi deixado a 2º C | Porcentagens de resultados positivos com a inoculação do material conservado no frio | Atividade do tumor logo após a sua extirpação |
|---|---|---|---|
| 536 | 5 | 40% | 80% |
| 537 | 5 | 80% | 60% |
| 525 | 6 | 60% | 60% |
| 538 A | 6 | 90% | 60% |
| 539 A | 9 | 33% | 66% |
| 538 C | 12 | 40% | 60% |
| 539 C | 14 | 80% | 66% |
| 591 | 16 | 20% | 50% |

Conservação em líquido de Bedson — Tambem foram feitos alguns enxertos com tumores conservados em líquido de Bedson. Os ensaios mostraram que a atividade tumorígena dos tecidos colocados nesse meio, mesmo quando em temperatura baixa (2º C.), fica muito prejudicada. Tivemos, entre outros, o caso da chamada Experiência 568, em que um tumor que deu 80% de resultados positivos logo depois de extirpado, passou a dar 66% de resultados positivos com 72 horas de tratamento pelo líquido de Bedson, a 2º C., e 33% de positividade com 96 horas, nas mesmas condições. Com 120 horas desse tratamento o tumor em questão perdeu completamente a propriedade de reproduzir-se por inoculação.

Permanência do tecido tumoral em animais de outra espécie — Já é conhecido o fato dos tumores, transplantaveis numa determinada espécie, muito raramente darem resultados positivos constantes quando enxertados em animais de espécie diversa. A razão desse fato ainda é desconhecida, não se sabendo tambem por quanto tempo a atividade cancerígena póde ser mantida quando o tumor é enxertado num animal de espécie refratária. O conhecimento desse assunto tem importância, porquanto póde oferecer um meio para se diminuir a virulência do tumor sem destruir totalmente o seu poder antigênico, o que será de grande interesse para se obter uma imunização ativa da espécie sensivel.

Em ensaios com esse objetivo (Expers. 625 e 627) tomamos diversos fragmentos de tumor fresco e, depois de os enxertar debaixo da pele de dois coelhos, aí os deixando 24 e 48 horas respectivamente, os

retiramos e enxertamos novamente em camondongos normais. Os resultados foram os seguintes: nos 10 camondongos que receberam fragmentos deixados sob a pele de um coelho durante 24 horas, um dos fragmentos deu um tumor; nos 10 camondongos enxertados com os fragmentos que permaneceram 48 horas no coelho desenvolveram-se 3 tumores. Ao mesmo tempo foram enxertados dois grupos de camondongos (Exper. 635) com pedaços do mesmo material, deixados respectivamente 24 e 48 horas à temperatura de 38° C. Os resultados positivos foram em número de um tumor para os enxertados do primeiro grupo e de 3 tumores para os enxertados do segundo grupo. Em 10 camondongos testemunhas enxertados com parte do mesmo tumor, logo após a extirpação, desenvolveram-se 8 tumores. Deve-se admitir, pois, que a temperatura de 38 a 40° C. é uma condição desfavoravel para a conservação da propriedade tumorígena, e isso talvez porque à essa temperatura é maior a autolise das células do tumor. Os camondongos em que fracassaram os enxertos acima referidos numa segunda inoculação (Exper. 638) receberam novos inóculos de material recentemente colhido, dando em resultado 2 tumores. Isso parece indicar que a primeira inoculação de material prejudicado pela temperatura de 38 a 40° C. não os tornou completamente resistentes.

Aumento da resistência contra o tumor no local dos enxertos — Uma questão ainda pouco conhecida na biologia dos tumores malignos é a que diz respeito à predisposição maior de certos tecidos para o desenvolvimento de enxertos de tecido neoplásico. Sabendo-se que logo depois da introdução de um inóculo tumoral num hospedeiro os tecidos que o envolvem reagem diferentemente, era de supor que o resultado de uma inoculação dependesse, pelo menos em parte, da reação processada em torno dos fragmentos inoculados. Se essa reação fosse favoravel, a introdução de um novo inóculo numa loja já preparada por uma inoculação anterior, deveria ter um desenvolvimento maior. Introduzindo fragmentos de tumor fresco em lojas das quais tinham sido retirados os inóculos aí introduzidos um, dois, tres e quatro dias antes, a ação favoravel dos fenomenos inflamatórios sobre o crescimento do tumor não se verificou. As segundas inoculações cresceram sempre com maior dificuldade. Estas observações induzem a admitir que a reação inflamatória provocada pelos fragmentos extranhos ao organismo são desfavoraveis ao crescimento do tumor enxertado, pelo menos na fase inicial da transplantação, quando as células vindas de outro animal ainda não se acham adatadas ao novo hospedeiro.

RESUMO

Resumindo podemos dizer ter conseguido um novo adenocarcinoma transplantavel do camondongo, tumor que no decurso de diversas passagens em série sofreu uma nítida modificação em seu aspecto microscópico.

O tecido tumoral conserva a propriedade de reproduzir o tumor mediante inoculação quando mantido em temperatura baixa durante 15 dias e perde essa propriedade quando posto a 38° C. durante 5 dias, ou em meio de Bedson.

Os animais em que uma primeira inoculação não resulta em tumor apresentam nítida resistência contra o desenvolvimento dos novos enxertos.

Localmente a reação inflamatória provocada pelos fragmentos enxertados tende a desfavorecer o crescimento das células tumorais.

## EXPERIMENTAL STUDIES CARRIED OUT WITH A SECOND TRANSPLANTABLE ADENOCARCINOMA OF THE MOUSE FOUND IN S. PAULO

*Abstract*

*This paper describes a second transplantable adenocarcinoma of the mouse found in S. Paulo. This tumor, during the course of its ten first serial transplantations, showed a variation in its microscopical appearance which consisted in loosing its original adenomatous character to appear as a difuse epithelial growth. The tumor tissue mantains its property of giving new growths when preserved at a low temperature of 2.° C. during 15 days. This property is entirely lost in about 5 days at the temperature of 38-40° C. In Bedson's solution its tranplantability is lost in a shorter period of time, even when such a treatment is carried out at the temperature of 2.° C. Mice once inoculated with negative results, show a marked resistence against further inoculations. Local inflammatory reactions caused by a first inoculation are unfavorable to the growth of new piaces of the tumor used in its place.*

## BIBLIOGRAFIA

1 — Morpurgo, B. e Donati, A. — 1912 — Studi su un sarcoma dei topi bianchi. *Atti del 1.° Congresso Internazionale dei Patologi.* Torino, 2-5 Ottobre 1911, pp. 1-18.

Morpurgo, B. e Donati, A. — 1913 — Sull'ereditá della disposizione all'attechimento del sarcoma dei topi albini. *Giorn. della R. Academia di Medicina di Torino* (Torino) 1:1-3.

2 — BESREDKA, A. e GROSS, L. — 1935 — Du rôle de la peau dans la sarcomatose de la souri. *Ann. de l'Inst. Pasteur* (Paris) 55:402-416.

BESREDKA, A. e GROSS, L. — 1937 — Du rôle de la peau proprement dite et du tissu sub-cutanée dans l'évolution des tumeurs malignes. *Presse Médicale* (Paris) 100:1803.

3 — SYMEONIDIS, A. — 1939 — Experimentelle und morphologische Untersuchungen zur Tumorimmunität. *Virchows Archiv* (Berlin) 304:115:139.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 28

Diversos aspectos microscópicos do tumor original e de seus descendentes obtidos por passagens em série. *A*, aspecto microscópico do tumor original ou espontâneo, mostrando o arranjo acinoso próprio dos adenocarcinomas. $A_1$, outro campo do mesmo tumor, com células tumorais difusamente espalhadas, sem arranjo acinoso. *B*, tumor resultante da primeira passagem, tendo ainda bem nítido o carater acinoso. $B_1$, tumor tambem resultante da primeira passagem com raros ácinos visiveis. *C*, tumor resultante da segunda passagem e com carater acinoso nítido. $C_1$, outro campo do mesmo tumor obtido com a segunda passagem, porém com as células em distribuição difusa. *D* e $D_1$, tumores resultantes da terceira passagem, não mostrando arranjo celular em ácinos

### Estampa 29

Outros aspectos microscópicos obtidos mediante continuação das passagens em série. *E* e $E_1$, tumores resultantes da quarta passagem com distribuição difusa das células. *F* e $F_1$, tumor da quinta passagem mostrando raros ácinos e grande predominância de distribuição celular difusa. *G*, tumor resultante da sétima passagem, ainda com distribuição das células em ácinos. *G* , tumor da oitava passagem, sem ácinos visiveis. *H* e $H_1$, nona e décima passagens com células difusamente distribuidas em todos os pontos do tecido tumoral, sob a fórma de grossas traves.

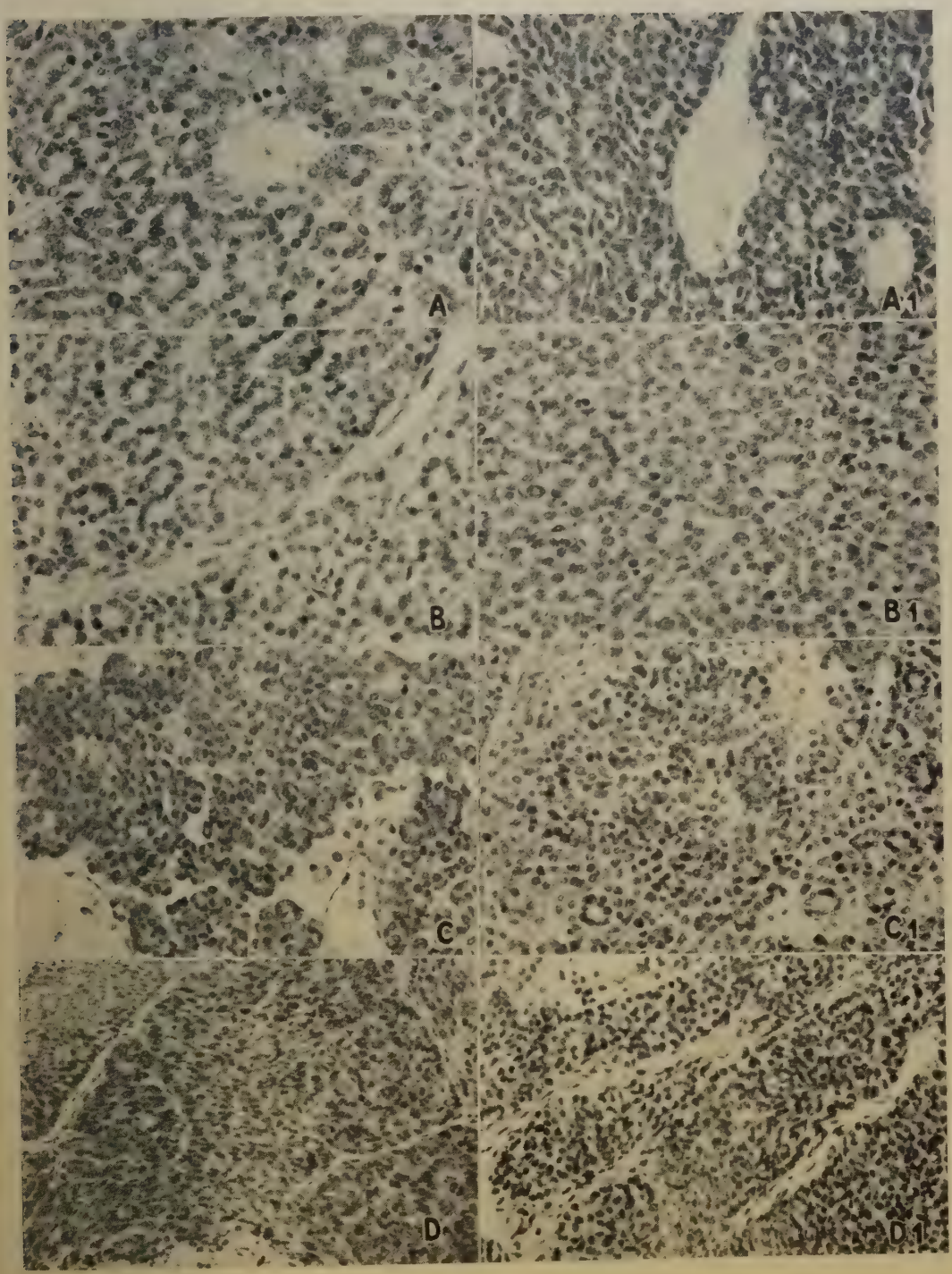
### Estampa 30

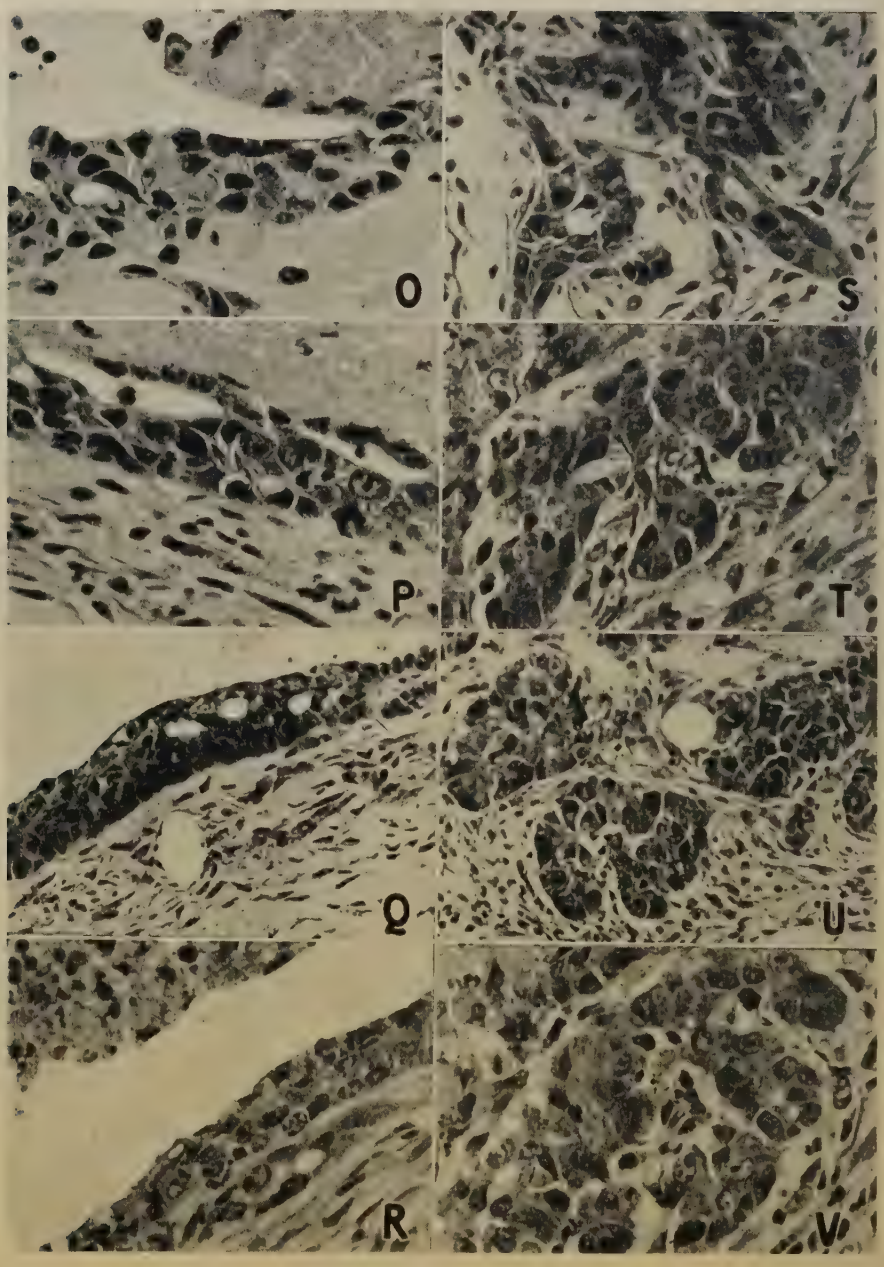
Desenvolvimento dos fragmentos tumorais enxertados sob a pele. *I*, inóculo de 36 horas, tendo na porção inferior um espaço cheio de líquido albuminoso. Em cima e à direita já se nota um início de proliferação conjuntiva. *J*, inóculo de 96 horas, totalmente cercado por tecido conjuntivo e já com diversas ilhotas neoplásicas recemproliferadas. *K*, inóculo de 24 horas. À esquerda vê-se o material enxertado com a porção central em necrobiose e com a porção periférica coberta por uma camada simples de células neoplásicas em início de proliferação; à direita percebe-se o tecido do hospedeiro com hemácias extravasadas e com proliferação inicial de tecido conjuntivo. *L*, inóculo de 96 horas, tendo a seu redor uma nítida camada de tecido conjuntivo proliferado. À esquerda vêm-se diversas ilhotas de células neoplásicas em franca proliferação e, à direita, o fragmento inoculado em adiantado estado de necrobiose *M*, inoculação feita 48 horas antes. No centro ha um espaço com restos de líquido albuminoso; sobre esse espaço vê-se uma parte do material inoculado, e, na sua porção inferior, numerosas células neoplásicas em franca proliferação. *N*, inoculação com 72 horas. Na parte inferior aparece o material inoculado, em necrose, e na parte superior, o tecido gorduroso do hospedeiro infiltrado por elementos neoplásicos em franca proliferação.

### Estampa 31

Detalhes microscópicos do material inoculado vistos com maior aumento no início do desenvolvimento dos inóculos. *O*, inóculo de 24 horas. Na parte superior e à direita percebe-se uma parte do material inoculado e na porção média, a parede da galeria de inoculação com células tumorais começando a se multiplicar. *P*, inóculo de 36 horas com detalhes comparaveis aos da microfotografia anterior, porém, em fase pouco mais adiantada. *Q*, parede de uma galeria em que 48 horas antes fôra colocado um fragmento de tumor. A superfície interna da galeria mostra um tecido conjuntivo frouxo recentemente formado, tendo um capilar. Sobre

essa camada conjuntiva vêm-se os elementos do tumor em franca proliferação. Entre as células do tumor percebem-se nitidamente pequenas cavidades vasias, possivelmente destinadas a favorecer o contato das células com os líquidos nutritivos. *R*, inoculação feita 72 horas antes. Em cima vêm-se restos do material inoculado em necrobiose e, em baixo, o tecido conjuntivo recemformado, com uma camada de células tumorais em franca proliferação; sob essa camada nota-se um cordão epitelial infiltrante, com pequena cavidade vasia em seu interior. *S*, *T*, *U* e *V*, inoculações feitas de 4 a 6 dias, anteriormente, mostrando campos do tecido conjuntivo que se forma ao redor do material inoculado e numerosas ilhotas de tecido tumoral em franco desenvolvimento.


A
A1
B
B1
C
C1
D
D1


O
S
P
T
Q
U
R
V

# CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA (ATTA spp. - HYMENOPTERA-FORMICIDAE) III - EXCAVAÇÃO DE UM SAÚVEIRO (ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908)

POR

M. Autuori

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 2 figuras no texto e estampa 32

As observações que se seguem, foram feitas em um saúveiro de nosso campo experimental em terreno anexo ao parque do Instituto Biológico. Em publicação anterior (1941) descrevemos a técnica e o método de trabalho que nos permitiram acompanhar o desenvolvimento de diversos saúveiros, desde sua origem, durante vários anos.

A içá (rainha) do saúveiro de que trata o presente artigo, penetrou no solo, fundando o novo saúveiro em 11 de novembro de 1937. Após 82 dias, isto é, em 31 de janeiro de 1938, foi aberto o primeiro olheiro; em 20 de fevereiro de 1939, após 15 mêses e 10 dias, a contar da penetração da içá na terra, apareceu o segundo olheiro, e em 14 de julho de 1939 já haviam sido abertos os primeiros 10 olheiros deste saúveiro.

Daí por diante o número de olheiros foi aumentando, seguindo aproximadamente o ritmo observado nos saúveiros descritos anteriormente (l.c.).

Em 10 de dezembro de 1940, isto é, 38 mêses após a penetração da içá no solo, deu-se, neste saúveiro, pela primeira vez, a saida das formas sexuadas em vôo nupcial (primeira revoada). A expansão dos olheiros nessa ocasião pode ser apreciada no mapa anexo. A área da terra fôfa tambem foi localizada e está representada na fig. 2, n.º 1.

Por ocasião da primeira revoada as formas aladas sairam, em grande maioria, dos olheiros localizados na terra fofa acima mencionada. Nesta mesma área foram feitas perfurações com a ferramenta J. P. (AUTUORI, 1940) e observamos que a zona de panelas vivas achava-se alí localizada.

Durante um período compreendido entre 2 e 6 mêses, após a primeira revoada, verificamos que a zona da terra fofa extendia-se para a esquerda, devido à abertura de novos olheiros, pelos quais se observava um movimento ininterrupto de formigas, em trabalho de transporte de terra do subsolo para a superfície. Tratava-se de excavação de novas panelas, como pudemos verificar mais tarde, tanto por

Fig. 1 — Planta do saúveiro excavado, assinalando a expansão dos olheiros e a localização da terra fofa. (vide detalhe na fig. 2). Os círculos pretos representam os olheiros até dezembro de 1940 e os brancos os olheiros de 1940 a setembro de 1941, ocasião da excavação.

meio de perfurações como pela abertura completa do saúveiro. Tambem verificamos que a zona de panelas vivas se estava deslocando para a esquerda.

Em fins de setembro de 1941, nas vésperas da segunda revoada, resolvemos excavar este saúveiro, que já se apresentava com todos os característicos da prerrevoada (AUTUORI, 1941).

Na ocasião da excavação, o saúveiro apresentava cerca de 800 olheiros, cuja expansão pode ser vista no mapa anexo em que os círculos pretos representam os olheiros de novembro 1937 até dezembro 1940, e os círculos em branco os olheiros de dezembro 1940 a setembro

1941, (ocasião da excavação). A área total da terra fofa está assinalada na fig. 2, distinguindo-se acima à direita, a área de terra fofa do ano anterior (Fig. 2, n.º 1). Nesta última área, não se observou mais depois da primeira revoada, nenhuma atividade por parte das formigas, estando os olheiros todos fechados; somente alguns dias antes de se iniciar a excavação, de que trata o presente artigo, é que verificamos a reabertura desses olheiros, com movimento de formigas em trabalho de transporte de terra do subsolo para a superfície.

A excavação que fizemos, e que foi realizada no saúveiro vivo, teve por objeto verificar:

a) — A correspondência entre a terra fofa da superfície e a zona de panelas, no subsolo.
b) — O número de panelas nessa zona.
c) — O número de machos e fêmeas.
d) — A população jovem (ovos, larvas, prepupas e pupas) na época da prerrevoada.

O método que seguimos nesta excavação é, em linhas gerais, o mesmo que foi proposto e empregado por STAHEL & GEIJSKES (1941). Não sendo, porem, no presente caso, nossa preocupação fazer o levantamento dos vários cortes para uma reconstituição do saúveiro, limitamo-nos a proceder da seguinte maneira:

Abrimos uma valeta, em linha reta, entre os pontos 4 e 5 (Fig. 2). Êsses pontos são os dois extremos de um dos lados da zona de terra fofa. Foram feitas, previamente, várias perfurações com a ferramenta J. P., que nos permitiram localizar a valeta (Fig. 2, n.º 3) um pouco aquem da zona das panelas. A profundidade da valeta foi de dois metros e quinze centímetros, alcançando uma zona espessa de piçarra, logo abaixo da qual se acha o nível de um lençol de água. Nas épocas de chuva o nível da água sobe, chegando às vezes a cobrir levemente a citada zona.

Aberta a valeta, iniciamos cortes de 20 centímetros de espessura cada um (Fig. 2, n.º 6). Dos dois lados da valeta, sobre a superfície do solo, eram feitas marcas de 20 em 20 centímetros, com estacas, acompanhando os cortes, de maneira a estabelecer todos os pontos de referência necessários para quaisquer localizações, durante e após a excavação.

A valeta media 7 metros de comprimento por 2,15 m. de profundidade, de maneira que o volume de terra retirado em cada secção era de cerca de 3 metros cúbicos.

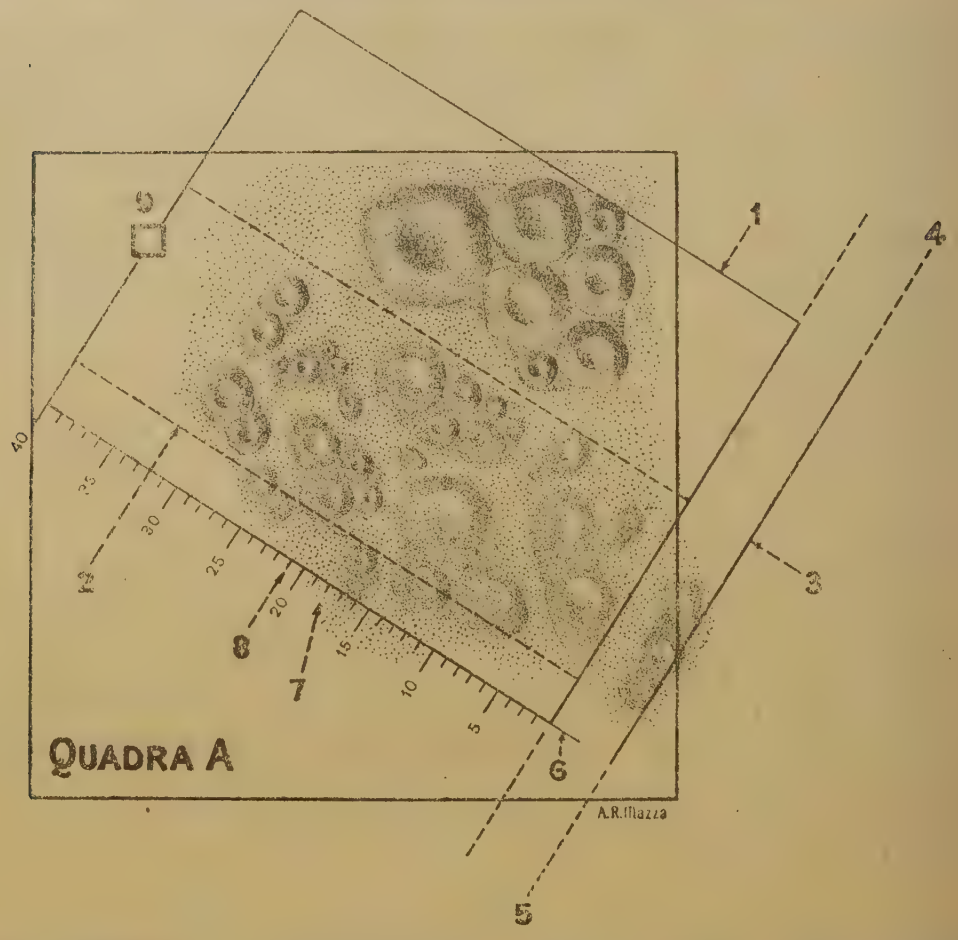



Fig. 2 — Quadra (A) — onde se localizava toda a terra fofa do saúveiro excavado.
N.º 1 — Área da terra fofa em dezembro de 1940. As formas aladas, por ocasião da primeira revoada deste saúveiro, sairam, na grande maioria, pelos "olheiros" localizados nesta área. Após a revoada, os "olheiros" aí localizados permaneceram fechados. (vide texto).
N.º 2 — Área da terra fofa em setembro de 1941 na ocasião da excavação. Esta área abrangia os olheiros que estavam em atividade e seu subsolo, as panelas com fungo e população (Zona viva do saúveiro).
N.º 3 — Valeta aberta aquem da zona de panelas.
N.º 4 e 5 — Os extremos de um dos lados da zona total da terra fofa.
N.º 6 — Os 40 cortes.
N.º 7 — Corte onde foi encontrada, numa das panelas, a "rainha" fundadora do saúveiro.
N.º 8 — Corte onde foram encontradas, numa das panelas, as 2 "rainhas" jovens, sem asas.
N.º 9 — Penela inicial aberta pela "rainha" fundadora deste saúveiro em novembro de 1937.

As panelas pequenas, menores de 20 centímetros, que ficavam dentro da camada de terra correspondente a um corte, eram assinaladas e seu conteúdo retirado, à medida que iam sendo descobertas.

As panelas maiores de 20 centímetros eram marcadas, depois de esvasiadas do seu conteúdo, na sua parede mais profunda, com um

pouco de cal. Adotamos este método afim-de evitar a contagem repetida da mesma panela nos cortes subsequentes. O conteúdo de cada panela era acondicionado em um frasco de vidro com tampa, e transportado para o laboratório.

TABELA 1

**Número e conteúdo das "panelas" e número das formas aladas**

| Numerção dos cortes | PANELAS | | | | | | Número de alados | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Com fungo | Com fungo inicial | Pequenas com fungo | Cheias de terra | Cheias de lixo | Vasias | Machos | Fêmeas |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 23 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 28 | 0 | 27 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 19 | 0 | 18 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 17 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 13 | 0 | 31 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 16 | 0 | 27 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 3 | 0 | 17 | 0 | 21 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 5 | 0 | 15 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| 9 | 9 | 0 | 0 | 10 | 0 | 25 | | |
| 10 | 12 | 1 | 6 | 5 | 0 | 17 | 3.764 | 147 |
| 11 | 14 | 4 | 9 | 9 | 0 | 16 | (*) | (*) |
| 12 | 18 | 2 | 4 | 6 | 0 | 10 | | |
| 13 | 17 | 4 | 2 | 8 | 0 | 8 | 1.109 | 42 |
| 14 | 20 | 6 | 21 | 5 | 0 | 13 | 4.549 | 114 |
| 15 | 35 | 3 | 0 | 7 | 0 | 7 | 3.337 | 185 |
| 16 | 10 | 2 | 18 | 8 | 0 | 4 | 3.110 | 174 |
| 17 | 21 | 3 | 10 | 3 | 0 | 13 | 2.387 | 239 |
| + 18 | 20 | 2 | 20 | 2 | 0 | 7 | 6.765 | 647 |
| 19 | 10 | 3 | 18 | 4 | 0 | 9 | 2.750 | 588 |
| 20 | 24 | 2 | 4 | 2 | 0 | 11 | 6.695 | 1.643 |
| ++ 21 | 5 | 1 | 6 | 0 | 0 | 6 | 958 | 491 |
| 22 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | 8 | 670 | 153 |
| 23 | 3 | 1 | 1 | 0 | 4 | 6 | 834 | 442 |
| 24 | 1 | 1 | 0 | 1 | 6 | 11 | 1.129 | 356 |
| 25 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 11 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 6 | 0 | 0 |
| 28 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 32 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 39 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | (**) | 0 | 0 |
| Totais | 224 | 45 | 121 | 226 | 14 | 397 | 38.057 | 5.221 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Formas aladas encontradas em canais | | 424 | 117 |
| Total das formas aladas | *43.819*, sendo | 38.481 | e 5.338 |
| Total das "panelas" | 1.027 | | |

(*) — Devido a um engano na contagem não foi possivel separar os totais de cada um destes 4 cortes.
(**) — Panela inicial, (excavada pela içá fundadora deste saúveiro em 10 de novembro de 1937).
\+ — Corte em que foi encontrada, numa panela, a "rainha" do saúveiro.
++ — Corte em que foram encontradas, numa panela, as 2 fêmeas novas sem asas.

Foram feitos 40 cortes. Encontramos um total de 1.027 panelas, sendo:

| | | |
|---|---|---|
| Com fungo | 224 | Zona "viva" do saúveiro = 390 panelas. |
| Com fungo inicial | 45 | |
| Pequenas (10-15 cms.) com fungo | 121 | |
| Cheias de terra | 226 | |
| Cheias de lixo | 14 | |
| Vasias | 397 | |

Encontramos ainda uma enorme panela de lixo e tambem a pequena panela inicial, (Fig. 2, n.º 9) esta última aberta pela içá fundadora do saúveiro em 11 de novembro de 1937. A panela inicial estava cheia de terra.

O espaço central, que foi visto por JACOBY e descrito, pela primeira vez, por EIDMANN (1932) (seg. EIDMANN, 1935), não foi por nós encontrado, a-pesar-de numerosas perfurações feitas atraves da camada de piçarra acima mencionada. Esta nossa observação concorda com a de EIDMANN (1935) porquanto diz este A. que o espaço central existe somente em saúveiros novos, que ainda não deram revoada.

Com exceção de duas pupas de machos, bem adiantadas, já escurecidas, todas as formas aladas estavam adultas.

Foram contadas 43.820 formas aladas, sendo 38.481 machos e 5.339 fêmeas. A proporção de machos para fêmeas, para este saúveiro, era portanto de 7,2 : 1.

A proporção por nós encontrada é mais baixa do que a encontrada por EIDMANN (1935), que foi de 10 : 1. Este autor calculou essa proporção aproximadamente, pois restringiu-se à contagem das fêmeas. O total de fêmeas encontradas por EIDMANN foi de 3.697, e este autor considera o saúveiro por ele aberto como sendo um enorme ninho. Em nosso caso, trata-se de um saúveiro de 4 anos de idade, prestes a entrar em sua segunda revoada.

O número mais elevado de fêmeas, por nós encontrado em um ninho que em absoluto não se pode chamar de enorme, e várias outras observações já feitas, fazem-nos levantar aqui a hipótese de que não sejam os saúveiros mais velhos os que fornecem maior número de formas aladas. Seria muito interessante fazerem-se observações repetidas nesse sentido, em saúveiros velhos, quer por meio de excavações, quer pela simples inspeção diária deles na época de prerrevoada e revoada.

Si for admitida, a monoginicidade do saúveiro o número de revoadas deve ser forçosamente limitado e os saúveiros velhos não mais devem entrar em revoada.

Além das 5.339 fêmeas por nós encontradas, devemos assinalar mais tres, desprovidas de asas. E' muito interessante lembrar aqui o fato de tambem EIDMANN (1935) haver encontrado, durante a excavação de um ninho de saúva, alem da fêmea fundadora do saúveiro, duas outras fêmeas sem asas. Seguindo o exemplo deste autor, examinamos os orgãos genitais dessas tres fêmeas, e verificamos que estavamos em presença de duas jovens, virgens, e de uma fêmea velha, que era sem dúvida a rainha, fundadora do saúveiro. A presença do receptáculo seminal mais ou menos entumescido e a ausência dos corpúsculos gordurosos na içá velha, é que nos levam à afirmação acima. As duas jovens içás apresentavam coloração mais clara e o tegumento mais elástico, não sendo encontrados, no exame dos orgãos genitais, o receptáculo seminal entumescido, ao passo que observamos grande quantidade de corpúsculos gordurosos.

A rainha fundadora do saúveiro foi encontrada numa das panelas do 18.º corte, (Fig. 2, n.º 7) isto é, praticamente no centro da zona de panelas vivas, juntamente com 86 formas aladas, das quais 84 machos e duas fêmeas. As outras duas içás (jovens) sem asas, foram encontradas numa das panelas do 21.º corte, (Fig. 2, n.º 8) juntamente com 292 formas aladas, das quais 161 machos e 131 fêmeas. Esta panela é uma das que continham maior número de fêmeas, em relação ao número de machos.

TABELA 2

Número de machos e fêmeas encontrados em cada panela

| Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 0 | 19 | 133 | 2 | 37 | 25 | 13 | 55 | 84 | 3 | 73 | 1 | 0 | 91 | 40 | 1 |
| 2 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 38 | 10 | 3 | 56 | 16 | 2 | 74 | 2 | 0 | 92 | 22 | 1 |
| 3 | 2 | 0 | 21 | 9 | 0 | 39 | 186 | 12 | 57 | 9 | 0 | 75 | 117 | 11 | 93 | 8 | 4 |
| 4 | 0 | 0 | 22 | 0 | 0 | 40 | 1 | 0 | 58 | 2 | 0 | 76 | 4 | 0 | 94 | 152 | 16 |
| 5 | 0 | 0 | 23 | 0 | 0 | 41 | 29 | 3 | 59 | 68 | 0 | 77 | 8 | 0 | 95 | 113 | 4 |
| 6 | 6 | 0 | 24 | 53 | 6 | 42 | 0 | 1 | 60 | 78 | 1 | 78 | 160 | 0 | 96 | 21 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 25 | 68 | 4 | 43 | 7 | 0 | 61 | 7 | 0 | 79 | 0 | 0 | 97 | 18 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 26 | 103 | 2 | 44 | 290 | 19 | 62 | 171 | 5 | 80 | 3 | 0 | 98 | 2 | 0 |
| 9 | 70 | 1 | 27 | 0 | 0 | 45 | 326 | 6 | 63 | 31 | 0 | 81 | 6 | 0 | 99 | 11 | 0 |
| 10 | 74 | 1 | 28 | 50 | 4 | 46 | 403 | 3 | 64 | 63 | 0 | 82 | 0 | 0 | 100 | 125 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 29 | 74 | 4 | 47 | 22 | 0 | 65 | 77 | 0 | 83 | 103 | 2 | 101 | 41 | 1 |
| 12 | 1 | 0 | 30 | 4 | 0 | 48 | 38 | 5 | 66 | 5 | 0 | 84 | 74 | 1 | 102 | 19 | 0 |
| 13 | 6 | 2 | 31 | 74 | 1 | 49 | 33 | 1 | 67 | 46 | 8 | 85 | 63 | 0 | 103 | 13 | 4 |
| 14 | 4 | 2 | 32 | 74 | 1 | 50 | 45 | 1 | 68 | 139 | 1 | 86 | 45 | 0 | 104 | 180 | 3 |
| 15 | 0 | 0 | 33 | 152 | 1 | 51 | 56 | 1 | 69 | 0 | 0 | 87 | 58 | 0 | 105 | 53 | 0 |
| 16 | 2 | 0 | 34 | 59 | 4 | 52 | 60 | 1 | 70 | 31 | 5 | 88 | 16 | 0 | 106 | 232 | 3 |
| 17 | 0 | 0 | 35 | 167 | 1 | 53 | 25 | 4 | 71 | 0 | 0 | 89 | 154 | 7 | 107 | 207 | 0 |
| 18 | 27 | 0 | 36 | 5 | 1 | 54 | 16 | 0 | 72 | 3 | 0 | 90 | 15 | 5 | 108 | 51 | 0 |

(Continuação)

| Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas | Numeração das panelas | Número de machos | Número de fêmeas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 109 | 315 | 3 | 156 | 155 | 7 | 203 | 180 | 4 | 250 | 30 | 2 | 297 | 55 | 0 | 344 | 116 | 22 |
| 110 | 160 | 0 | 157 | 14 | 0 | 204 | 136 | 2 | 251 | 8 | 0 | 298 | 150 | 34 | 345 | 89 | 33 |
| 111 | 40 | 0 | 158 | 67 | 2 | 205 | 211 | 31 | 252 | 68 | 16 | 299 | 384 | 53 | 346 | 484 | 57 |
| 112 | 16 | 0 | 159 | 33 | 1 | 206 | 6 | 0 | 253 | 1 | 0 | 300 | 353 | 27 | 347 | 265 | 171 |
| 113 | 63 | 1 | 160 | 29 | 4 | 207 | 36 | 12 | 254 | 27 | 4 | 301 | 88 | 20 | 348 | 386 | 106 |
| 114 | 30 | 0 | 161 | 115 | 22 | 208 | 25 | 4 | 255 | 18 | 0 | 302 | 13 | 43 | 349 | 332 | 50 |
| 115 | 28 | 0 | 162 | 64 | 8 | 209 | 5 | 0 | 256 | 73 | 6 | 303 | 34 | 18 | 350 | 1087 | 246 |
| 116 | 62 | 1 | 163 | 391 | 4 | 210 | 28 | 2 | 257 | 96 | 0 | 304 | 39 | 7 | 351 | 172 | 23 |
| 117 | 41 | 0 | 164 | 213 | 43 | 211 | 53 | 1 | 258 | 88 | 66 | 305 | 6 | 0 | 352 | 193 | 9 |
| 118 | 103 | 12 | 165 | 130 | 2 | 212 | 3 | 0 | 259 | 12 | 17 | 306 | 135 | 18 | 353 | 253 | 37 |
| 119 | 58 | 2 | 166 | 184 | 3 | 213 | 86 | 3 | 260 | 97 | 2 | 307 | 6 | 1 | 354 | 129 | 24 |
| 120 | 34 | 0 | 167 | 30 | 1 | 214 | 151 | 30 | 261 | 81 | 20 | 308 | 7 | 34 | 355 | 51 | 3 |
| 121 | 125 | 0 | 168 | 18 | 3 | 215 | 50 | 5 | 262 | 76 | 0 | 309 | 233 | 66 | 356 | 151 | 48 |
| 122 | 6 | 0 | 169 | 12 | 1 | 216 | 138 | 17 | 263 | 166 | 1 | 310 | 210 | 27 | 357 | 59 | 57 |
| 123 | 141 | 4 | 170 | 120 | 13 | 217 | 81 | 9 | 264 | 93 | 19 | 311 | 31 | 50 | 358 | 87 | 20 |
| 124 | 34 | 0 | 171 | 80 | 10 | 218 | 150 | 1 | 265 | 332 | 18 | 312 | 314 | 13 | 359 | 684 | 127 |
| 125 | 23 | 11 | 172 | 37 | 2 | 219 | 298 | 2 | 266 | 173 | 31 | 313 | 123 | 7 | 360 | 2 | 0 |
| 126 | 80 | 1 | 173 | 80 | 1 | 220 | 277 | 5 | 267 | 10 | 4 | 314 | 41 | 12 | 361 | 5 | 7 |
| 127 | 47 | 0 | 174 | 60 | 5 | 221 | 480 | 20 | 268 | 68 | 6 | 315 | 591 | 85 | 362 | 6 | 18 |
| 128 | 240 | 6 | 175 | 58 | 0 | 222 | 76 | 6 | 269 | 96 | 1 | 316 | 99 | 15 | 363 | 21 | 28 |
| 129 | 160 | 4 | 176 | 16 | 4 | 223 | 1 | 0 | 270 | 68 | 23 | 317 | 45 | 12 | 364 | 35 | 30 |
| 130 | 420 | 6 | 177 | 78 | 5 | 224 | 15 | 0 | 271 | 215 | 0 | 318 | 63 | 2 | 365 | 113 | 35 |
| 131 | 148 | 1 | 178 | 18 | 2 | 225 | 7 | 3 | 272 | 261 | 16 | 319 | 75 | 30 | 366 | 47 | 34 |
| 132 | 47 | 0 | 179 | 104 | 2 | 226 | 73 | 2 | 273 | 104 | 7 | 320 | 22 | 14 | 367 | 384 | 87 |
| 133 | 330 | 12 | 180 | 52 | 0 | 227 | 70 | 4 | 274 | 52 | 4 | 321 | 60 | 7 | 368 | 75 | 31 |
| 134 | 172 | 1 | 181 | 0 | 0 | 228 | 120 | 15 | 275 | 10 | 4 | 322 | 25 | 7 | 369 | 36 | 15 |
| 135 | 65 | 2 | 182 | 19 | 0 | 229 | 175 | 24 | 276 | 62 | 0 | 323 | 100 | 18 | 370 | 75 | 73 |
| 136 | 207 | 1 | 183 | 70 | 2 | 230 | 7 | 13 | 277 | 1 | 0 | 324 | 16 | 39 | 371 | 161 | 131 |
| 137 | 25 | 7 | 184 | 5 | 0 | 231 | 190 | 20 | 278 | 21 | 1 | 325 | 4 | 1 | 372 | 7 | 0 |
| 138 | 1 | 0 | 185 | 51 | 2 | 232 | 482 | 3 | 279 | 62 | 0 | 326 | 104 | 18 | 373 | 10 | 4 |
| 139 | 51 | 0 | 186 | 51 | 0 | 233 | 15 | 1 | 280 | 104 | 17 | 327 | 71 | 21 | 374 | 17 | 6 |
| 140 | 68 | 1 | 187 | 44 | 0 | 234 | 15 | 1 | 281 | 304 | 21 | 328 | 54 | 3 | 375 | 23 | 18 |
| 141 | 18 | 0 | 188 | 40 | 0 | 235 | 57 | 11 | 282 | 1 | 3 | 329 | 141 | 10 | 376 | 32 | 26 |
| 142 | 3 | 0 | 189 | 76 | 14 | 236 | 43 | 6 | 283 | 58 | 2 | 330 | 175 | 23 | 377 | 281 | 54 |
| 143 | 6 | 0 | 190 | 131 | 10 | 237 | 86 | 0 | 284 | 152 | 14 | 331 | 111 | 59 | 378 | 300 | 45 |
| 144 | 147 | 3 | 191 | 475 | 19 | 238 | 150 | 30 | 285 | 316 | 99 | 332 | 404 | 79 | 379 | 119 | 212 |
| 145 | 7 | 0 | 192 | 57 | 3 | 239 | 187 | 18 | 286 | 84 | 2 | 333 | 634 | 119 | 380 | 219 | 124 |
| 146 | 200 | 24 | 193 | 9 | 0 | 240 | 59 | 12 | 287 | 603 | 28 | 334 | 36 | 56 | 381 | 484 | 96 |
| 147 | 10 | 0 | 194 | 124 | 1 | 241 | 56 | 17 | 288 | 480 | 26 | 335 | 186 | 56 | 382 | 10 | 4 |
| 148 | 34 | 2 | 195 | 28 | 3 | 242 | 32 | 2 | 289 | 78 | 17 | 336 | 264 | 67 | 383 | 2 | 6 |
| 149 | 48 | 0 | 196 | 2 | 0 | 243 | 31 | 3 | 290 | 34 | 8 | 337 | 139 | 17 | 384 | 43 | 22 |
| 150 | 180 | 3 | 197 | 62 | 5 | 244 | 11 | 0 | 291 | 144 | 12 | 338 | 80 | 62 | 385 | 47 | 0 |
| 151 | 79 | 7 | 198 | 8 | 3 | 245 | 6 | 0 | 292 | 294 | 10 | 339 | 0 | 1 | 386 | 63 | 6 |
| 152 | 202 | 8 | 199 | 94 | 4 | 246 | 157 | 3 | 293 | 0 | 0 | 340 | 20 | 22 | 387 | 145 | 28 |
| 153 | 21 | 0 | 200 | 9 | 0 | 247 | 30 | 1 | 294 | 162 | 4 | 341 | 49 | 11 | 388 | 62 | 19 |
| 154 | 24 | 2 | 201 | 155 | 5 | 248 | 2 | 0 | 295 | 549 | 5 | 342 | 45 | 44 | 389 | 6 | 0 |
| 155 | 63 | 12 | 202 | 168 | 2 | 249 | 18 | 20 | 296 | 266 | 25 | 343 | 50 | 17 | 390 | 310 | 112 |

Pelos dados acima, verifica-se que:

a) — O maior número de formigas aladas, em uma panela, foi de 1.333, sendo 1.087 machos e 246 fêmeas.

b) — Em 98 panelas foram encontrados somente machos.

c) — Em duas panelas foram encontradas somente fêmeas.

d) — Em 14 panelas foram encontradas mais fêmeas do que machos, e em 259 mais machos do que fêmeas.

e) — Em 17 panelas com fungo não foram encontradas formas aladas.

f) — Em 55 panelas foram encontradas de 1 a 10 formas aladas.

g) — Em 46 panelas foram encontradas de 11 a 30 formas aladas.

h) — Em 73 panelas foram encontradas de 31 a 60 formas aladas.

i) — Em 79 panelas foram encontradas de 61 a 120 formas aladas.

j) — Em 75 panelas foram encontradas de 121 a 250 formas aladas.

l) — Em 36 panelas foram encontradas de 251 a 500 formas aladas.

m) — Em 9 panelas foram encontradas mais de 500 formas aladas.

Devido à ausência quasi completa de atividade das içás (fêmeas) e dos bitús (machos), no interior do ninho, a distribuição das formas aladas nas panelas, conforme verificamos na ocasião, deve aproximar-se muito da que habitualmente ocorre nos saúveiros. Ao se descobrirem as panelas e quando toda a "esponja" era retirada e colocada em frascos de vidro para exame e contagem, notávamos que os alados não se dispersavam, mas, ao contrário, permaneciam sempre aglomerados em volta e sobre a "esponja de fungo".

O fato de havermos encontrado 541 alados nos canais e em mistura com a terra retirada, pode ser atribuido a desmoronamentos internos ocasionados pelas perfurações destinadas à localizar a zona de panelas e feitas antes de se iniciarem as excavações.

A população jovem, neste saúveiro, era muito reduzida. Encontramos apenas algumas centenas de ovos, larvas, prepupas e pupas.

Ao examinar as panelas com fungo e população, encontramos vários insetos mirmecófilos, que serão entregues para estudo, a especialista.

## PANELAS DE LIXO

Das 14 panelas de lixo, 13 eram panelas comuns cheias de detritos, principalmente de "esponjas" de fungo, esgotadas. Nada apresentavam de anormal e achavam-se distribuidas pelos cortes 23 a 28.

A panela de lixo restante era uma enorme excavação de base quasi circular, com cerca de 120 cms. de diâmetro por 90 cms. de altura. Esta panela foi encontrada a 125 cms. de profundidade a contar da superfície da terra e estava localizada atrás e pouco abaixo da zona de panelas vivas, entre os cortes 25 a 31.

Esta enorme panela estava quasi totalmente cheia de detritos que formavam uma massa compacta de "esponjas" de fungo, esgotadas, tomadas de "bolor", entremeada de inúmeros cadáveres de formigas pertencentes a todas as castas, inclusive alados. Em alguns pontos notavam-se grãos de milho germinando e cuja coleoptila alcançava até 5 cms. de altura. Tambem encontramos uma grande quantidade de insetos e outros pequenos animais.

Retirado o conteúdo da panela, verificamos, na sua base, tres grandes canais de cerca de 20 cms. de largura por 10 de altura (Estampa 32). Esses canais não se aprofundavam e ligavam-se aos canais normais do saúveiro.

Os vários animais encontrados na panela de lixo estão assim distribuidos:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Insecta | | | |
| Coleoptera | 1.491 | exemplares | adultos |
| Diptera | 15 | » | » |
| Hemiptera | 56 | » | » |
| Mollusca | 40 | » | » |
| Reptilia | 4 | » | » |
| Arachnida | | | |
| Pseudoscorpionida | 1 | » | » |

Alem dos animais acima mencionados foram encontrados mais: 1 colônia de Formicidae e várias larvas de coleópteros e dípteros.

Deixo aqui assinalados os mais sinceros agradecimentos aos Snrs. Miguel C. Leite, Beatriz Semes e Donias Braz, da Seção de Parasitologia Vegetal, por auxilios prestados, principalmente na separação e contagem das formas aladas, e ao Snr. R. L. Araujo, por sugestões apresentadas na revisão do manuscrito.

## CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE "SAÚVA"
### (Atta spp. — Hymenoptera-Formicidae)
### III — Excavation of a "saúveiro" (Sauva-nest)
### (Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908)

*Abstract*

*In this paper the contents of a sauva-nest (Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908) are described. The origin and development of the nest were known, the "queen" (içá) having started the*

*foundation of the nest 47 months before (November 10, 1937). The nest was dug open on the day before the second nuptial flight (revoada) of its females and males. The method of work, which permitted to secure all wing-bearing forms and the contents of the fungus-chambers (panelas) are described. 40 sections, 20 cms. thick, were made. The nest contained 1.027 fungus-chambers, 390 of which contained fungus and ants (Vital zone of the sauva-nest); 226 were full of earth; 397 were empty and 14 contained refuse. Among the refuse chambers a very large one was found which contained a great number of living insects and other animals. The initial chamber dug by the "içá" on November 10, 1937, was also found to be full of earth.*

*43.820 wing-bearing forms were counted, i. e. 38.481 males and 5.339 females. The ratio of males and females was 7,2:1.*

*Table n.º 1 records the number and the contents of the fungus-chambers and the number of wing-bearing forms found during the excavation.*

*The fundatrix of the colony as well as two other females, still virgin and deprived of wings were also found. The former was found in section n.º 18 and the latter in section n.º 21.*

*The most salient morphological differences between the fundatrix and the virgin females are reported.*

*Table n.º 2 gives the number of males and females found in each of the 390 chambers. The maximum number of wing-bearing forms found in a single chamber was 1.333 (1.087 males and 246 females).*

*A description and a photograph of the refuse chamber are given.*

*In the chambers containing population and fungus, several myrmecophilous insects were found. A map is also given of the distribution of the entrances (olheiros) and of the zone of loose earth accumulated on the surface of the nest.*

## BIBLIOGRAFIA

AUTUORI, M. — 1937 — Contribuição para a biologia da formiga "saúva" (Atta spp.). Plano de trabalho e observações preliminares. *O Biologico*, São Paulo, Brasil, 3: 286-288.

AUTUORI, M. — 1940 — Um novo processo de combate à saúva. *O Biologico*, São Paulo, Brasil, 9: 270-272.

AUTUORI, M. — 1941 — Contribuição para o conhecimento da Saúva (Atta spp. — Hymenoptera — Formicidae) I — Evolução do saúveiro (Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908). — *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, Brasil, 12: 197-228.

AUTUORI, M. — 1942 — Contribuição para o conhecimento da Saúva (Atta spp. — Hymenoptera — Formicidae) II — O Saúveiro inicial (Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908). — *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, Brasil, 13: 67-86.

EIDMANN, H. — 1935 — Zur Kenntnis der Blattschneiderameise Atta sexdens L. insbesonders ihrer Oekologie. *Zs. angew. Ent.*, Berlim, 22: 185-241, 385-436.

STAHEL & GEIJSKES — 1939 — Ueber den Nestbau von Atta cephalotes L. und Atta sexdens L. (Hym. — Formicidae). *Rev. de Entomol.*, Rio de Janeiro, Brasil, 10: 27-78.

STAHEL & GEIJSKES — 1941 — Weitere Untersuchungen über Nestbau und Gartenpilz von Atta cephalotes L. und Atta sexdens L. (Hym. — Formicidae). *Rev. de Entomol.*, R. de Janeiro, Brasil, 12: 243-268.

Vol. 13 — Art. 15 Dezembro de 1942

# DADOS A RESPEITO DE "TETRASTICHUS GIFFARDIANUS SILV.", PARASITA DA "CERATITIS CAPITATA WIED."

POR

M. Autuori

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 1 figura no texto e estampa 33

I — Dados históricos
II — Introdução do *T. giffardianus* em São Paulo, Brasil
III — Dados biológicos
IV — Técnica empregada na criação do *T. giffardianus* em laboratório
V — Distribuição do parasita
VI — Recuperação do *T. giffardianus*

## I — DADOS HISTÓRICOS

Durante alguns anos as duas espécies de parasitas de moscas das frutas, *Tetrastichus giffardii* SILV. e *Tetrastichus giffardianus* SILV. foram confundidas. Pelas súmulas bibliográficas abaixo poder-se-á acompanhar o desenvolvimento da questão e verificar que a espécie *T. giffardianus* foi de fato a única introduzida em Hawaii e, a partir dessa ilha, em outras regiões.

Em 1913, SILVESTRI, em uma viagem à África com o fim de estudar parasitas das moscas das frutas, encontrou e descreveu, alem de vários outros, o himenóptero *Tetrastichus giffardii*, parasita de *Ceratitis antistictica* BEZZI, *C. giffardii* BEZZI, *C. colae* SILV. e *Dacus bipartitus* GRAHAM. Esse material foi obtido nas regiões de Nigéria do Sul (Dahomey e Cotonou), Costa do Ouro (Aburi) e Camerum (Vitória).

Além de estudar esta espécie sob certos aspectos ecológicos, SILVESTRI considerou a possibilidade de sua importancia econômica no combate às moscas das frutas na Nigéria e lembrou o interesse de sua introdução em Hawaii e na Europa, mas sugeriu a necessidade de fazer-se um melhor estudo preliminar de sua biologia. Informou tambem ter conseguido manter vivo o parasita, em tubos de vidro, por mais de quinze dias.

Ainda nesse mesmo ano PATTERSON tambem assinalou o *Tetrastichus giffardii* como parasita de *Ceratitis colae*, na Costa do Ouro.

FULLAWAY, em 1914, colecionou na Nigéria e introduziu em Hawaii, diversos parasitas de *Ceratitis capitata*, entre os quais "*T. giffardii*". Acredita este A. não haver dúvida quanto à possibilidade de se multiplicar esse inseto em grande escala. Declarou ser essa a

espécie que SILVESTRI descobrira na África Ocidental, e que o material coletado por aquele entomologista não conseguira sobreviver à viagem de volta.

Em 1915 EHRHORN assinala em Honolulu a libertação de 1.050 exemplares de "*T. giffardii*", e em apêndice a seu relatório FULLAWAY registra a criação, em novembro de 1914, de 2.450 "*T. giffardii*" a partir de 1.967 pupas de *Ceratitis*. No mês seguinte (fevereiro de 1915) EHRHORN e FULLAWAY relatam a continuação da libertação dos parasitas introduzidos em Hawaii e entre eles a do "*T. giffardii*".

Em 1915, BACK e PEMBERTON, de Hawaii, estudando a biologia da mosca das frutas, do ponto de vista da introdução de seus parasitas, declaram que o insucesso na introdução do "*T. giffardii*" em Hawaii pode ser atribuido à curta duração da vida do parasita e ao seu hábito de pôr os ovos tanto em ovos como em jovens larvas de *C. capitata*.

EHRHORN, nos meses de março, abril e maio de 1915, continua a assinalar a criação e libertação de "*T. giffardii*" nos pomares de Hawaii, sendo naquele último mês obtidos 9.200 exemplares.

SILVESTRI, ainda em 1915, descrevendo diversas novas espécies de himenópteros parasitas, dá a conhecer o *Tetrastichus giffardianus*, procedente da Nigéria do Sul (Olokomeje) e Dahomey (Cotonou), como parasita de *Ceratitis giffardii* BEZZI. Por não ter podido completar o estudo da biologia desta espécie, SILVESTRI não pôde afirmar si os ovos do parasita em questão eram postos nos ovos ou nas jovens larvas da mosca, e recomenda que, em havendo possibilidade, seja melhor estudada a biologia dos *Tetrastichus*. Lembra que isso foi feito por FULLAWAY, que segundo lhe informara havia provado que o *T. giffardianus* põe ovos nas larvas e nelas inicia seu desenvolvimento, para continuá-lo e terminá-lo nas pupas das moscas, como já havia sido assinalado para *T. giffardii*. Continua SILVESTRI, informando que FULLAWAY conseguira introduzir exemplares desta espécie *(T. giffardianus)* nas ilhas Hawaii e que o estava multiplicando para tentar a sua aclimação. FULLAWAY enviara a SILVESTRI pupas de *C. capitata* parasitadas por *T. giffardianus*. Em observações complementares à descrição desta espécie, SILVESTRI declara que, devido à semelhança dos hábitos biológicos dos parasitas, confundira *T. giffardii* com *T. giffardianus*. Assinala as diferenças morfológicas entre as duas espécies e termina dizendo que por não saber de qual espécie de *Ceratitis* obtivera FULLAWAY os exemplares que transportara para Hawaii resolveu rever todo o material por ele próprio colhido na África Ocidental e assim pôde verificar que o *T. giffardianus* parasitava, alí, a *Ceratitis giffardii* BEZZI.

De setembro de 1915 a julho de 1916, encontram-se ainda comunicações a respeito da criação e libertação de *"T. giffardii"*, em Hawaii.

BACK e PEMBERTON, em abril de 1916, em trabalho sobre parasitismo das larvas de *C. capitata* em Hawaii, durante o ano de 1915, dizem que *"T. giffardii"* fôra libertado entre 27 de outubro e 21 de dezembro de 1914 na ilha de Cahu, em Kona e Hilo (Distritos de Hawaii). No distrito de Kona nenhum exemplar de *"T. giffardii"* fôra criado nas larvas de *C. capitata* dos frutos de café, apesar do grande número de parasitas libertados. Este parasita, no entanto, foi capturado em canais feitos por larvas de moscas de frutas em nozes podres de "Kamani". Em experiências de laboratório verificaram aqueles autores que o parasitismo mais intenso se dá com relação às larvas das moscas que abandonam os frutos, 1 ou 2 dias depois de colhidos.

FULLAWAY, em 1917, em relatório sôbre os insetos benéficos introduzidos em Hawaii, lembra ainda a criação e libertação de *"T. giffardii"*.

BACK e PEMBERTON, em 1918, em extenso trabalho relativo à Mosca do Mediterraneo em Hawaii, descrevem a biologia do *T. giffardianus* e esclarecem que esta espécie havia sido até então confundida com *T. giffardii,* de maneira que todas as referências a *Tetrastichus* como parasita da *C. capitata* referem-se somente a *T. giffardianus.* Assinalam a possibilidade do *T. giffardianus* não colaborar com outros parasitas, mas revelar-se um concurrente, uma vez que suas larvas podem destruir as daqueles parasitas no interior do hospedeiro.

Em janeiro de 1918, PEMBERTON e WILLARD manifestam esperanças de que o *T. giffardianus* possa ser util no combate à *C. capitata.* No entanto esses mesmos autores, no mês seguinte (fev. de 1918), tratando das interrelações dos parasitas das moscas em Hawaii, informam que o *T. giffardianus* se mostrara decidido destruidor de quaisquer larvas de outros parasitas quando no interior do mesmo hospedeiro; isto devido ao número superior de larvas de *Tetrastichus* em relação ao dos outros, e não devido a tendências canibalescas.

FULLAWAY, ainda em 1918, informa que em abril desse ano foram libertados 80 exemplares de *T. giffardianus* e em agosto mais 1.200, e ainda em maio de 1919, 1.750 exemplares.

PEMBERTON e WILLARD, em novembro de 1918, em notavel contribuição para o conhecimento da biologia de parasitas das moscas das frutas, em Hawaii, sumariando os resultados gerais das investigações de biologia, com relação ao valor econômico dos parasitas da *C. capitata,* introduzidos naquela ilha, descrevem extensivamente a anatomia

dos parasitas larvais e, entre outros, a do *T. giffardianus*. Assinalam tambem *Galeius silvestrii* KIEFF. como parasita secundário das larvas do *T. giffardianus* quando estas já se acham nos pupários da *C. capitata*, mas somente até 4 dias de idade. Ainda assinalam *Pachycrepoideus dubius* ASHM. como parasita secundário ocasional de *T. giffardianus* e outros.

FULLAWAY, em maio de 1920, informa da distribuição de 28.675 *T. giffardianus* no ano de 1919; em maio de 1921 comunica a distribuição de mais 24.650 exemplares, e finalmente a continuação da libertação deste parasita em 1922, sempre nas ilhas de Hawaii.

WILLARD, relatando novamente trabalhos sôbre o parasitismo de *C. capitata* em Hawaii, durante os anos de 1919-1920, assinala haver o *T. giffardianus* progredido com relação aos anos anteriores e observa que este parasita ataca os seus hospedeiros em frutos polpudos, ao passo que os Opiineos não o conseguem, e que em 1920 o *T. giffardianus* atacou livremente larvas em goiaba.

FULLAWAY, em relatório de 1923 e 1925, assinala a libertação, respectivamente, de 8.700 e 10.500 exemplares de *T. giffardianus* em Hawaii.

WILLARD e BISSEL, em continuação aos seus trabalhos sobre os parasitas de *C. capitata* em Hawaii, passam em revista o que foi feito nos anos de 1916 a 1921. Em 1921 verificaram que durante 6 meses o *T. giffardianus* foi o parasita mais eficiente e isso parece revelar um notavel incremento na importância desta espécie.

WILLARD, em observações sobre a ecologia da Mosca do Mediterraneo, diz, em 1926, que o *T. giffardianus* não consegue desenvolver-se em larvas de outras moscas senão nas de *C. capitata*, pois seus ovos, quando postos em larvas de *Dacus cucurbitae*, são enquistados para ser logo depois destruidos; mas o mesmo, de um modo geral, não se dá quando as larvas de *D. cucurbitae* já estão parasitadas pelo seu parasita habitual *Opius fletcheri*, verificando-se nestes casos que alguns *T. giffardianus* conseguem sobreviver.

MARLATT, em 1934, informa que em 1933 foi remetido pelo U. S. Bureau of Entomology à Australia, entre diversos outros parasitas, o *T. giffardianus* para combater a Mosca do Mediterraneo, e para a California como possivel parasita da mosca *Rhagoletis suavis completa* CRESSON.

MASON, em 1934, diz que a atividade combinada de diversos parasitas da *C. capitata*, incluindo o *T. giffardianus*, reduziu de 50% o ataque daquela mosca.

SIMMONDS, tratando das pragas de frutas mais importantes em Fiji, refere-se à introdução de um pequeno lote de *T. giffardianus*,

procedente de Hawaii, e informa que este parasita se cria facilmente em laboratório em larvas de ambos os Tripetídios mais frequentes em Fiji, *Dacus passiflora* FROGGAT e *D. xanthodes* BROUN, tanto que a colônia de 10 exemplares recebida produziu, em quatro meses 12.000 exemplares. As colonias estavam sendo distribuidas tão rapidamente quanto possivel e em uma determinada localidade já se obtivera 20% de parasitismo.

Esse mesmo autor, em 1935, assinala remessas de *T. giffardianus* para Novas Hebridas, Oeste de Samoa, Nova Gales do Sul e Nova Caledônia, e, em 1936, diz que o *T. giffardianus*, que havia sido introduzido em Fiji em 1935 para combate às espécies de *Dacus*, fôra recuperado em março de 1936, num distrito onde fôra libertado em setembro do mesmo ano, tendo suportado 5 meses de tempo extremamente úmido. Numa outra localidade foi recuperado depois de um período sêco de 5 meses.

Ainda em 1936 este mesmo autor informa que não mais se conseguira recuperar o *T. giffardianus* no distrito em que seu parasitismo havia atingido 20%, conforme ele assinalara em 1935. Foi todavia o parasita recuperado em Tamavua e proveniente de colônias libertadas quando as condições haviam melhorado. Oferece dados biológicos principalmente referentes ao ciclo evolutivo que se totalizou em 21 dias; 90-120 ou mais ovos foram postos num período de 4 dias; o ciclo evolutivo do hospedeiro foi de cerca de 30-33 dias. Em laboratório obteve a média de 7 parasitas por pupa, e em um caso registrou 36 parasitas.

Continúa SIMMONDS, em 1937, dizendo que o *T. giffardianus* não conseguira sobreviver ao longo período durante o qual o seu hospedeiro esteve quasi ausente.

ZUALUVENBURG, em relatório referente a uma expedição à África Ocidental para a procura de parasitas das moscas das frutas (1935-1936), anota *T. giffardianus* como parasita de *Ceratitis nigra* GRAHAM em Kenia, de *C. anonae* WLK. no Camerum Francês, de *Dacus puntatifrons* KARSCH., de *Ceratitis giffardii* BEZZI e de *C. punctata* em Sierra Leone. O *T. giffardianus* foi tambem encontrado parasitando *Ceratitis punctata* e *Carpophthoromyia* sp. no Camerum Francês.

WILLARD e MASON, referindo-se ao parasitismo da Mosca do Mediterraneo em Hawaii, de 1914 a 1933, apresentam tabelas mensais da porcentagem de parasitismo das diversas espécies introduzidas naquela ilha, incluindo o *T. giffardianus*, nas quais se verifica que esta espécie parasitou em média 6,3% das larvas de *C. capitata* anualmente, durante 20 anos, e que atingiu seu máximo de eficácia em 1923.

Em 1938 LEVER assinala *T. giffardianus* parasitando *Dacus* spp. com um ciclo evolutivo de 14-19 dias. Este mesmo autor, ainda no mesmo ano, registra a remessa de *T. giffardianus* para Cook Islands e Western Samoa.

## II — INTRODUÇÃO DO "TETRASTICHUS GIFFARDIANUS SILV." EM SÃO PAULO — BRASIL

Em 1937, o Instituto Biológico de São Paulo, por iniciativa do Prof. F. SILVESTRI, promoveu a introdução desse inimigo natural da Mosca do Mediterraneo, solicitando e recebendo (em agosto) de Hawaii algumas dezenas de exemplares de *Tetrastichus giffardianus* SILV. Apenas 12 dos exemplares que nos foram enviados chegaram vivos. Quatro deles foram postos em contato com frutos de café atacados por larvas de *Ceratitis capitata* e os restantes com frutos atacados por larvas de *Anastrepha* spp. Estes oito últimos exemplares não se multiplicaram, ao passo que, dos quatro aos quais foram dados frutos de café com larvas de *C. capitata*, obtivemos 42 exemplares em primeira geração no Brasil.

Já em julho de 1938, com a décima geração, obtivemos 25.831 exemplares. Daí por diante a criação se tem processado regular e satisfatoriamente. A primeira libertação desse parasita em nosso país foi de 600 exemplares, em Campinas e Amparo, em março de 1938.

## III — DADOS BIOLÓGICOS

Duração do ciclo evolutivo — Observações e experiências repetidas forneceram dados que demostram oscilações entre 25 e 35 dias, na duração do ciclo evolutivo do *T. giffardianus*, em São Paulo.

Porcentagem dos sexos — O número de fêmeas, nesta espécie, é pouco superior ao dos machos. Em uma contagem de 6.607 exemplares, a proporção foi de 3.858 fêmeas e 2.749 machos, ou seja 58,4% de fêmeas.

Fecundação — A cópula dá-se logo depois que os adultos emergem do pupário da mosca. Observamos frequentemente a realização desse ato sobre o próprio pupário de *C. capitata*, antes mesmo da procura do alimento. Antes e durante a cópula, que dura cerca de 1 minuto, observa-se agitação caraterística dos machos, denunciada pela vibração rapidissima das asas.

Período de preoviposição — Várias experiências foram feitas para verificar o número de horas entre a saída dos adultos do pupário e a desova. A técnica empregada para se verificar esse

detalhe foi a seguinte: certo número de fêmeas e de machos foi posto em contato com frutos infestados por larvas de moscas; passado determinado número de horas, os frutos eram retirados do viveiro e substituidos por outros. As larvas das moscas que já haviam permanecido em contato com os parasitas eram separadas para a obtenção de adultos. Nas duas tabelas abaixo encontramos alguns resultados obtidos por esse meio.

TABELA 1

Em 26-9-1938, às 18 horas foram postos em contato com 10 frutos (ameixas) infestados por moscas, 5 casais do parasita, recemnascidos

| Intervalo entre a infestação e a retirada do material | Pupas de moscas separadas | *Tetrastichus giffardianus* obtidos |
|---|---|---|
| 14 horas | 0 | 0 |
| 19 » | 2 | 5 |
| 24 » | 0 | 0 |
| 38 » | 0 | 0 |
| 48 » | 1 | 13 |
| 62 » | 2 | 12 |
| 71 » | 0 | 0 |
| 86 » | 0 | 0 |
| 90 » | 0 | 0 |
| 110 » | 0 | 0 |

TABELA 2

Em 27-9-1938, às 18 horas, foram postos em contato com 10 frutos (café) infestados por moscas, 5 casais do parasita, recemnascidos

| Intervalo entre a infestação e a retirada do material | Pupas de moscas separadas | *Tetrastichus giffardianus* obtidos |
|---|---|---|
| 14 horas | 0 | 0 |
| 24 » | 3 | 35 |
| 38 » | 0 | 0 |
| 48 » | 2 | 10 |
| 63 » | 0 | 0 |
| 67 » | 0 | 0 |
| 83 » | 0 | 0 |
| 92 » | 0 | 0 |
| 107 » | 0 | 0 |

Pelos dados das duas tabelas acima verifica-se que o mínimo obtido para o termo do período de preoviposição foi de 19 horas, e o máximo, de 62 horas.

Número de larvas de moscas parasitadas por uma única fêmea de *T. giffardianus* — Pela tabela abaixo poder-se-á constatar que o número máximo de larvas de moscas que uma fêmea de *T. giffardianus* parasitou foi 7.

TABELA 3

Em 18-7-1939 foram separados frutos de cafeeiro infestados por número conhecido de larvas de *C. capitata* e foram postos em contato com uma fêmea fecundada de *T. giffardianus*.

| Número de frutos de cafeeiro | Número de larvas de moscas em cada fruto de cafeeiro | Moscas obtidas | Pupas parasitadas | Número de *T. giffardianus* |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 1 | 3 | 2 | 10 |
| 20 | 1 | 12 | 5 | 25 |
| 20 | 2 | 28 | 7 | 32 |
| 20 | 2 | 25 | 5 | 23 |

Número máximo de ovos postos por uma fêmea de *T. giffardianus* — Pela tabela 3 verifica-se que o número máximo de ovos postos por uma fêmea do parasita foi 32.

Longividade do *T. giffardianus* em cativeiro — Os parasitas confinados em tubos de vidro com alimento (mel) começavam a morrer após 25 dias. A longividade máxima observada foi de 35 dias para fêmeas. Sem alimento os parasitas morrem dentro de 3 dias. Parasitas alimentados durante vários dias, e depois passados para outros tubos sem alimento, morrem tambem dentro de 3 dias.

Número de exemplares de *T. giffardianus* por pupa de *C. capitata* — Pela tabela 4 verifica-se que num total de 831 pupas de *C. capitata* foram obtidos 8.797 *T. giffardianus*, ou seja 10,5 parasitas por pupa.

Idades da larva de *Ceratitis* preferidas pelo *T. giffardianus* para a oviposição — Afim-de definir os estágios da larva da *Ceratitis capitata* preferidos pelo parasita, empregamos o seguinte processo: peneirou-se diariamente a areia dos viveiros que continham frutos com larvas de diversos tamanhos e que haviam permanecido em contato com parásitas. As pupas obtidas pelo

TABELA 4

Contagem de pupas parasitadas e parasitas obtidos

| Número de pupas parasitadas | Número de parasitas obtidos | Número de pupas parasitadas | Número de parasitas obtidos | Número de pupas parasitadas | Número de parasitas obtidos |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 21 | 16 | 136 | 4 | 17 |
| 4 | 28 | 7 | 58 | 3 | 43 |
| 5 | 41 | 84 | 1.105 | 6 | 64 |
| 4 | 20 | 3 | 15 | 3 | 32 |
| 31 | 324 | 11 | 128 | 8 | 76 |
| 16 | 133 | 14 | 125 | 18 | 185 |
| 30 | 268 | 22 | 107 | 12 | 76 |
| 3 | 17 | 15 | 138 | 52 | 568 |
| 11 | 142 | 11 | 50 | 8 | 64 |
| 14 | 150 | 31 | 245 | 14 | 154 |
| 7 | 66 | 21 | 203 | 5 | 24 |
| 7 | 18 | 6 | 55 | 30 | 361 |
| 10 | 80 | 10 | 61 | 1 | 32 |
| 1 | 5 | 23 | 186 | 20 | 172 |
| 3 | 28 | 61 | 1.050 | 21 | 379 |
| 3 | 23 | 24 | 259 | 6 | 38 |
| 11 | 103 | 43 | 532 | 30 | 280 |
| 13 | 206 | 4 | 27 | 8 | 79 |

peneiramento da areia, eram separadas de acôrdo com a data da pupagem e dos dados completados com o aparecimento dos parasitas. Observou-se que o *T. giffardianus* mostrou franca preferência pelos últimos estágios das larvas, o que poderá ser avaliado pelas tabelas 5 e 6.

TABELA 5

Em 10-4-1939 foram colocados parasitas em contato com frutos contendo larvas de moscas das frutas

| Número e data das separações das pupas | Número de pupas de moscas obtidas | Número de *T. giffardianus* obtidos |
|---|---|---|
| 1.ª em 11-4-939 | 0 | 0 |
| 2.ª em 12-4-939 | 0 | 0 |
| 3.ª em 13-4-939 | 54 | 258 |
| 4.ª em 14-4-939 | 10 | 60 |
| 5.ª em 15-4-939 | 37 | 72 |
| 6.ª em 17-4-939 | 1 | 0 |
| 7.ª em 18-4-939 | 20 | 0 |
| 8.ª em 19-4-939 | 14 | 0 |
| 9.ª em 20-4-939 | 8 | 0 |
| 10.ª em 22-4-939 | 4 | 0 |
| 11.ª em 24-4-939 | 0 | 0 |
| 12.ª em 26-4-939 | 0 | 0 |

TABELA 6

Em 11-4-1939 foram colocados parasitas em contato com frutos contendo larvas de moscas das frutas

| Número e data das separações das pupas | Número de pupas de moscas obtidas | Número de *T. giffardianus* obtidos |
|---|---|---|
| 1.ª em 12-4-939 | 0 | 0 |
| 2.ª em 13-4-939 | 0 | 0 |
| 3.ª em 14-4-939 | 56 | 387 |
| 4.ª em 15-4-939 | 32 | 132 |
| 5.ª em 16-4-939 | 90 | 604 |
| 6.ª em 17-4-939 | 24 | 0 |
| 7.ª em 18-4-939 | 12 | 0 |
| 8.ª em 19-4-939 | 14 | 0 |
| 9.ª em 20-4-939 | 3 | 0 |
| 10.ª em 22-4-939 | 0 | 0 |

Pelos dados das tabelas 5 e 6 verifica-se que o *T. giffardianus* parasitou somente as larvas mais desenvolvidas, pois todas as pupas obtidas depois da quinta separação, portanto provenientes de larvas que se encontravam ainda pouco desenvolvidas na data da experiência, não foram parasitadas.

## IV — TÉCNICA EMPREGADA NA CRIAÇÃO DO *T. GIFFARDIANUS* EM LABORATÓRIO

O parasita encontra nas temperaturas acima de 20° C. bôas condições para o seu desenvolvimento, variando a ótima de 25 a 30° C.

O tipo de viveiro usado para a criação do parasita consiste em caixas retangulares de madeira, guarnecidas de tela metálica de malha finissima nos dois lados menores, na tampa e no fundo. Os lados maiores são guarnecidos de vidro. Sobre o fundo do viveiro põe-se uma camada de 1-2 cms. de areia fina e sobre esta os frutos atacados por larvas da Mosca do Mediterraneo. O *T. giffardianus* é libertado nestes viveiros em número variavel, de acôrdo com a quantidade de frutos e com o grau de infestação deles pelas moscas. Os viveiros podem, naturalmente, variar de tamanho, mas os que temos usado mais frequentemente medem 23 por 15 cms. nos lados e 23 cms. de altura. (Estampa 33, fig. *A*).

Após 20-25 dias, a contar da libertação dos parasitas nos viveiros retiram-se os frutos e peneira-se a areia para retirar as pupas das moscas. As pupas parasitadas diferenciam-se pela coloração mais escura, o que permite separá-las prontamente e transferí-las para tubos

de vidro (de 16 cms. de comprimento por 3 cms. de diâmetro) providos de leve camada de areia sêca e fechados com tampão de algodão. Depois de alguns dias (3-4), começam a emergir os parasitas, que são transferidos para outro tubo de vidro igual ao acima citado (estampa 33, fig. *B*) e no qual se teve o cuidado de traçar com pincel fino uma linha longitudinal de uma mistura de mel e água (50%), que é o alimento. Este, oferecido nestas condições, representa um detalhe de certa importância na conservação dos parasitas, porquanto a prática demonstrou que si o alimento é dado em excesso, pode aumentar a mortalidade dos parasitas, que nele se prendem.

Este parasita é de facil manipulação, dado o seu fototropismo positivo fortemente acentuado, o que geralmente se dá tambem com outras espécies.

**Fig. 1 — Mapa do Estado de São Paulo, Brasil, indicando a distribuição do parasita *T. giffardianus***

Renovando-se o alimento com intervalos de 3-4 dias, consegue-se manter vivo o *T. giffardianus,* como dissemos acima, por cerca de 25 dias. A umidade a eles necessária é mantida por umedecimento do tampão de algodão.

O número de parasitas para cada tubo deve ser de cerca de 200, não convindo ultrapassá-lo de muito, pois isso acarretaria o aumento da mortalidade, abreviando o tempo util principalmente para o transporte dos lotes de parasitas para localidades distantes.

O transporte do *T. giffardianus* para pomares e outras culturas é feito nos próprios tubos e a libertação processa-se de preferência em locais onde o número de espécies de árvores frutíferas seja variado.

## V — DISTRIBUIÇÃO DO PARASITA

Até junho de 1942, foram obtidas, em laboratório, 52 gerações de *T. giffardianus*, com um total de 399.129 exemplares. Desse total, cerca de ¾ foram distribuidos em 217 propriedades agrícolas dentro do Estado de São Paulo (Vide mapa, fig. 1). Para os Estados do Rio, Baía, Sta. Catarina, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio Grande do Sul, foram remetidos vários lotes de parasitas.

## VI — RECUPERAÇÃO DO "T. GIFFARDIANUS" NO ESTADO DE SÃO PAULO

Damos abaixo uma lista da algumas localidades em que o parasita foi recuperado de material de frutas colhido em pomares onde havia sido libertado: (a primeira data refere-se à primeira distribuição do parasita e a segunda à época em que foi colhido o material de frutas): Limeira (Faz. Itapema) 18-6-1938 — 8-7-1938; Limeira (Chacara São Paulo) 8-7-1938 — 6-10-1938; Campinas (Fazenda Chapadão) 5-5-1938 — 10-9-1940; Campinas (Fazenda Mato Dentro) Fev. 1939 — Set. 1939; Campinas (Fazenda Sete Quedas) Set. 1938 — Set. 1940; Piracicaba (Escola Agrícola) junho 1938 — Set. 1938; Osasco (Chácara Santos Dumont) Set. 1938 — Nov. 1938.

Devo especiais agradecimentos ao Snr. MIGUEL C. LEITE, Preparador-Instrutor na Seção de Parasitologia Vegetal, principalmente pelas valiosas informações relativas à criação deste parasita, a qual ha cerca de 3 anos se acha entregue aos seus cuidados. Tambem sou muito grato ao Snr. R. L. ARAUJO, Assistente do Instituto Biológico, pelo auxílio prestado nas pesquisas bibliograficas e na revisão do manuscrito.

## OBSERVATIONS ON "TETRASTICHUS GIFFARDIANUS SILV.", PARASITE OF "CERATITIS CAPITATA WIED."

### *Abstract*

*This paper deals with Tetrastichus giffardianus* SILV., *1913, parasite of the fruit-fly Ceratitis capitata, in São Paulo, Brazil. A historical review of the literature on the parasite is presented. The following are the principal subjects treated: introduction of the parasite in São Paulo, Brazil; life-history; percentage of the sexes; mating; preoviposition period; number of larvae of the fly parasitized by a single female Tetrastichus; maximum number of*

*eggs laid by a single female; longevity; number of parasites per pupa of C. capitata; larval stages prefered by the parasite for oviposition.*

*The breeding methods are described and the distribution of the parasite in orchards is recorded, a list of the localities where the parasite was recovered being presented.*

*37 bibliographical references, 2 photos and 1 map are included.*

BIBLIOGRAFIA


AUTUORI, M. — 1938 — Notas sôbre a introdução e multiplicação do parasita Tetrastichus giffardii SILV., no Brasil. *O Biologico*, São Paulo, Brasil, 4: 128-129.

BACK, E. A. & PEMBERTON, C. E. — 1915 — Life-history of the Mediterranean Fruit-Fly from the standpoint of Parasite Introduction *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 3: 363-374.

BACK, E. A. & PEMBERTON, C. E. — 1916 — Parasitism among the larvae of the Mediterranean Fruit-Fly (C. capitata in Hawaii during 1915. *Jl. Econ. Ent.*, Concord, 9: 306-311.

* BACK, E. A. & PEMBERTON, C. E. — 1918 — The Mediterranean Fruit-Fly in Hawaii. *U. S. Dpt. Agric.*, Washington DC., *Bull.* 536, 119 pp.

* EHRHORN, E. M. — 1915 — Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 12: 13-16.

* EHRHORN, E. M. & FULLAWAY, D. T. — 1915 — Report of the Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 12: 46-49.

* EHRHORN, E. M. — Report of the Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 12: 95-97; 121-123; 333-336.

* EHRHORN, E. M. — 1916 — Report of the Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 13: 67-69; 140-151; 195-202; 240-242.

FONSECA, J. PINTO da — 1938 — O combate biológico às moscas das frutas. *O Biologico*, São Paulo, Brasil, 4: 221-225.

* FULLAWAY, D. T. — 1914 — Fruit-Fly Control. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 11: 349-350.

* FULLAWAY, D. T. — 1917 — Report on Beneficial Insects. Rept. Div. Ent. for the Bien. Period ending 31st Dec., 1916. *Territory of Hawaii Board Agric. and Forestry*, Honolulu, pp. 105-109.

* FULLAWAY, D. T. — 1918 — Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 15: 90-91; 235-236; 381-382 and 408-409.

* FULLAWAY, D T. — 1919 — Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 16: 132-133.

* FULLAWAY, D. T. — 1920 — Division of Entomology. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 17: 133-135.

* FULLAWAY, T. D. — 1922 — Annual Report of Calender Year 1921. *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 19: 103-105.

* FULLAWAY, D. T. — 1923 — Report of the Entomology. *Hawaii Bd. Agric. and Forestry*, Honolulu. *Rept. Bien. Period ended 31 Dec.*, pp. 53-68.

* FULLAWAY, T. D. — 1924 — Annual Report for Calender Year 1923 *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 21: 179-181.

* FULLAWAY, T. D. — 1926 — Annual Report (Of the Entomologist) 1925, *Hawaiian Forester and Agric.*, Honolulu, 23: 47-48.

* Lever, R. J. A. W. — 1938 — Division of Entomology — Annual Report for 1937. *Ann. Bull. div. Reps. Dept. Agr. Fiji*, Suva, 1937, pp. 25-27.

* Lever, R. J. A. W. — 1938 — Economic insects in some western Pacific Islands. *Agric. J. Fiji*, Suva, 9: 11-12.

* Marlat, C. L. — 1933 — Report of the Chief of the Bureau of Entomology, 1933, 47 pp. Washington DC., U. S. Dpt. Agric.

Mason, A. C. — 1934 — Some Methods for Shipping, Feeding and Rearing Fruit-Fly Parasites. *Jl. econ. Ent.*, Geneve, N. Y., 27: 891-897.

Pemberton, C. E. & Willard, H. F. — 1918 — Interrelations of Fruit-Fly Parasites in Hawaii. *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 12: 285-295.

Pemberton, C. E. & Willard, H. F. — 1918 — A contribution to the Biology of Fruit-Fly Parasites in Hawaii. *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 12: 419-465.

Pemberton, C. E. & Willard, H. F. — 1918 — Fruit-Fly parasitism in Hawaii during 1916. *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 12: 103-108.

Silvestri, F. — 1913 — Viaggio in Africa per cercare parassiti di mosche dei frutti. *Boll. Lab. Zool. Sc. Agr.*, Portici, 8: 3-164.

Silvestri, F. — 1915 — Descrizione di nuovi Imenotteri Calcididi africani. *Boll. Lab. Zool. Sc. Agr.*, Portici, 9: 337-377.

Silvestri, F. — 1916 — Sulle Specie di Trypaneidae (Diptera) del genere Carpomyia dannose ai frutti di Zizyphus. *Bol. Zool. Sc., Agr.*, Portici, 11: 170-182.

* Simmonds, H. W. — 1935 — Fruit-Fly in Fiji. *Agric. J. Fiji*, Suva, 8: 22-23, 32.

* Simmonds, H. W. — 1936 — Entomological Notes. *Agric. J. Fiji*, Suva, 8: 43.

* Simmonds, H. W. — 1936 — Fruit-Fly Investigations. *Bull. Dpt. Agric. Fiji*, Suva, 19: 18 pp.

* Simmonds, H. W. — 1937 — Fruit-Fly. *Agric. J. Fiji*, Suva, 8: 23.

Willard, H. F. — 1923 — Work and Parasitism of the Mediterranean Fruit-Fly in Hawaii during 1919 and 1920. *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 25: 1-7.

Willard, H. F. & Bissel, T. H. — 1926 — Work and Parasitism of the Mediterranean Fruit-Fly in Hawaii in 1921. *Jl. Agric. Res.*, Washington DC., 33: 9-15.

* Willard, H. F. — 1927 — Some observations in Hawaii on the Ecology of the Mediterranean Fruit-Fly Ceratitis capitata Wied. and its Parasites. *Proc. Hawaii Ent. Soc.*, Honolulu, 6: 505-515.

* Willard, H. F. & Mason, A. C. — 1937 — Parasitization of the Mediterranean Fruit-Fly in Hawaii, 1914-1933. *Cir. U. S. Dpt. Agric.*, Washington DC., 439: 18 pp.

* Zwaluwenburg, R. H. — 1936 — Report of an Expedition to West Africa in Search of Fruit-Fly parasites (1935-1936). 25 pp. Typescript, *U. S. Dpt. Agric. Bur. Ent.*

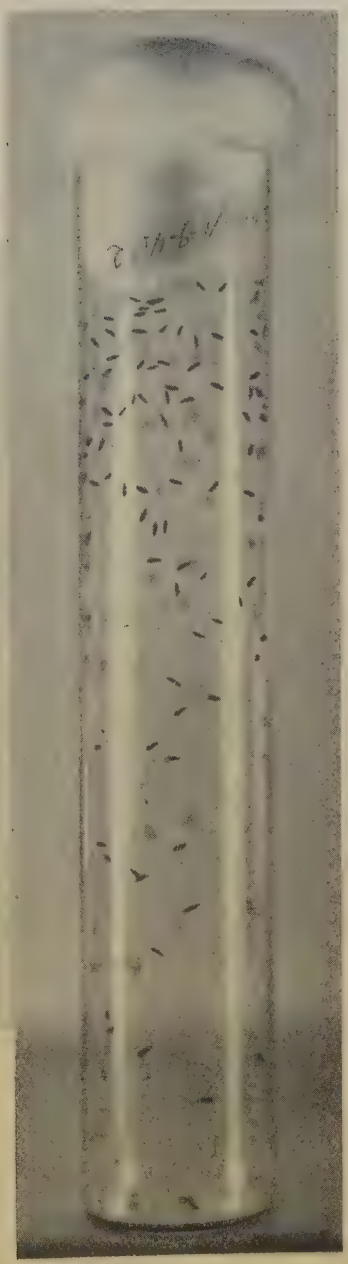
* Os trabalhos assinalados com asterístico, inacessiveis ao autor, foram consultados por intermédio da Review of Applied Entomology.

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 33

Fig. *A* — Viveiro para a criação do *T. giffardianus*.

Fig. *B* — Tubo de vidro com *T. giffardianus*.

*A*



*B*

Vol. 13 — Art. 16 Dezembro de 1942

# ESTUDO SOBRE A AÇÃO TÓXICA DO EXTRATO DE FOLHAS DA PITEIRA "FOURCRAEA GIGANTEA VENT."

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com as estampas 34-35

No decurso de um estudo comparativo para verificar a ação tóxica que exerciam sôbre coelhos os extratos aquosos de plantas ictiotóxicas, tivémos ocasião de observar que a seiva obtida por expressão das folhas da piteira tem propriedades altamente venenosas para esses animais.

A injeção venosa de 2 cc. desse líquido na veia marginal da orelha de coelhos grandes provoca relaxamento mais ou menos acentuado do tonus muscular, sonolência entrecortada por pequenas fases de excitação, aceleração dos movimentos respiratórios e morte num período variável entre 12 e 96 horas.

Além dessas manifestações podem ser observadas alterações locais e perturbações graves na integridade e coagulabilidade do sangue.

O princípio ativo existente no material empregado é uma saponina.

Tratando-se de um assunto sôbre o qual quasi nada existe na literatura, achamos que será de interesse relatar mais detalhadamente as experiências e observações que fizemos a esse respeito.

MATERIAL USADO — O material usado consistiu em folhas de piteira obtidas nas imediações de Piramboia (Linha Sorocabana) e classificada pelo Instituto de Botânica da Secretaria da Agricultura como sendo a *Fourcraea gigantea* VENT. As folhas, de 2 a 3 metros de comprimento depois de cuidadosamente lavadas, eram cortadas longitudinalmente e a parte mais grossa submetida a um processo de compressão por torsão, graças ao qual se obtem um líquido esverdeado espumoso.

Esse líquido, na dóse de 1 cm. para 100 cc. de água, mata pequenos peixes (Guarús — *Phallocerus caudimaculatus)* dentro de 10 minutos.

Em repouso o líquido referido dá, dentro de alguns minutos, um precipitado flocoso esverdeado pouco estável e que, mediante agitação, se dispersa facilmente, ficando com o aspecto ligeiramente turvo de uma emulsão.

## EXPERIÊNCIAS FEITAS COM O LÍQUIDO EM SUA TOTALIDADE

Injeções venosas — Injetado na dóse de 5 cc. esse líquido ordinariamente produz a morte dos animais. Na dóse de 2 a 3 cms. provoca os sintomas acima referidos. Se essa dóse for injetada em 2 vezes, com um intervalo de meia hora entre as injeções, é frequente observar-se que, na segunda vez, o ponto da picada continúa a sangrar depois de se retirar a agulha da veia. Se não forem tomadas as providências necessárias, todo o sangue poderá se escoar por esse ponto, como em casos de hemofilia. Diversos animais que morreram nessas condições tinham no coração e grandes vasos, ainda muitas horas depois da morte, uma pequena quantidade de sangue perfeitamente fluído. Esse, retirado e posto em tubos, conservou-se indefinidamente sem se coagular.

Em dóses menores (0,5 a 1 cc.) apenas provoca ligeira excitação. Nenhum dos coelhos que receberam essa dóse mostrou indícios de incoagulabilidade do sangue. Quando as injeções são feitas nas veias de modo a permitir que o líquido permaneça alguns instantes retidos nos vasos injetados, verifica-se em poucas horas grande congestão, tumefação e hemorragias acompanhadas de edema e de necróses na área da injeção. O quadro tem certa semelhança morfológica com o fenômeno de SHWARTZMAN.

Injeções intraperitonais — O mesmo líquido injetado na cavidade peritoneal provoca, a princípio, grande reação dolorosa. Os animais gritam durante cerca de um minuto e depois cáem num estado de depressão e sonolência do qual ocasionalmente despertam por alguns segundos.

A morte dá-se geralmente entre 2 e 12 horas após o emprego da dose indicada. Em quantidades menores os efeitos dolorosos continuam a se apresentar, sendo as outras manifestações menos intensas e a morte observada mais tardiamente. Ás injeções subcutâneas também se seguem de reação dolorosa passageira.

LESÕES MACROSCÓPICAS — As necrópsias dos animais que morrem não antes de 6 horas após as injeções mostram, além da menor coagulabilidade do sangue, uma palidez nítida do figado, do coração e dos rins. E' frequente aparecerem pequenas hemorragias nos pontos em que os animais costumam ser presos para a sua manipulação (orelhas, tecidos subcutâneos do dorso e dos membros). Nos casos de injeção peritoneal, além do quadro descrito observa-se grande acúmulo de líquido seroso claro, no peritoneo, nas cavidades pleurais e às vezes no pericardio. O tecido subcutâneo do abdomen ocasionalmente também se mostra consideravelmente edemaciado.

As injeções subcutâneas são acompanhadas das mesmas alterações e de fórte reação local constituida por edemas, ora por hemorragias, ora por escaras de mortificação nos pontos injetados.

LESÕES MICROSCÓPICAS — Alterações locais: No ponto das injeções subcutâneas notam-se, ao redor da zona necrosada, intensa infiltração edematosa, extravasamentos sanguíneos e infiltração dos tecidos, principalmente por neutrófilos. Na orelha, nos casos em que foram feitas injeções lentas ou repetidas, notam-se grande congestão dos capilares e veias, intenso extravasamento de hemacias e de plasma dos vasos para os tecidos e fórte infiltração das camadas perivasais por leucocitos neutrófilos. Nos casos de gangrena, além dos sinais de necróse, ha maior acúmulo de exsudato celular. Quando a morte não se dá dentro de 48 horas, é comum o aparecimento de um fóco de necróse no ponto injetado.

Coração: O quadro histológico é o de uma intensa degeneração parenquimatosa. No coração desaparecem as estriações transversa e longitudinal; as fibras ficam separadas entre si devido ao acúmulo de líquido nos intersticios do tecido e o protoplasma das fibras torna-se francamente granuloso e, não raro, fragmentado. Com essas alterações às vezes veem-se necróses e proliferações celulares, possivelmente em consequência de complicações bacterianas.

Pulmões: Nos pulmões ha grandes áreas de edema e de hemorragias. Os septos pulmonares se tornam espessos devido à presença de númerosos capilares congestos, e de células acumuladas em seu interior. No fígado também ha uma forte degeneração parenquimatosa. Os elementos hepáticos tornam-se tumefeitos e os cordões de Remak frequentemente se desintegram. Às vezes se apresentam completamente necrosados, como que em autolise. Também como os elementos hepáticos, desintegram-se ou se necrosam em grande número as células de Kupffer. Em alguns casos esses fenômenos coincidem com a presença de grande quantidade de gordura no interior das células.

Rins: Nos rins veem-se glomérulos com as células das cápsulas de Bowmann tumefeitas, destruidas ou descamadas. Nos tubos contornados também se vê nítida degeneração, ora parenquimatosa, ora gordurosa. As células epiteliais se tumefazem e se destacam. Em alguns casos todo o revestimento se destaca da membrana basal. Nesses tubos tem-se a impressão de que houve grande acumulo de líquido entre a membrana basal e o revestimento do epitelio. Nos tubos coletores é frequente o aparecimento de cilíndros, sendo êstes, às vezes, celulares ou então granulosos.

Supra renais: Aumento da camada fascicular formada por células contendo grande quantidade de substâncias gordurosas. Núcleos célulares e capilares sanguíneos, sem alterações.

Medula óssea: Congestão dos capilares, presença de pequenas hemorragias e de números fócos de proliferação de elementos formadores de sangue.

AÇÃO SOBRE A COAGULAÇÃO DO SANGUE — Um dos animais, que recebeu 4 cc. do líquido na veia, foi sangrado cerca de 5 horas mais tarde. Um ensaio sôbre coagulabilidade, feito em comparação com o sangue de coelho normal, pelo Dr. OTTO BIER, da Seção de Sêrologia do Instituto, mostrou o seguinte:

| Material | Tempo de coagulação |
|---|---|
| 1 cc. de sangue de coelho normal, sem nenhum tratamento . . | 6' |
| 1 cc. de sangue de coelho injetado 5 horas antes com 4 cc. de extrato de *Fourcraea* . . . . . | + 60' |
| 1 cc. de sangue de coelho normal com 3 gotas $CaCl_2$ a 1% . . | 6' |
| 1 cc. de sangue de coelho injetado 5 horas antes com 4 cc. de extrato de *Fourcraea* . . . . . | + 60' |

Para verificar se não existia uma possível alteração na quantidade de cálcio foi feito o seguinte ensaio:

| Plasma de 2 cc. de sangue de coelho normal mais 0,25 cc. de oxalato de potassio a 1% nas seguintes proporções: | | Plasma de 2 cc. de sangue de coelho normal injetado na veia com 4 cc. de seiva de piteira mais 0,25 cc. de sol. de oxalato de potassio a 1% nas seguintes proporções: | |
|---|---|---|---|
| 5 gotas de plasma | | 5 gotas de plasma | |
| + 1 gota $CaCl_2$ a 1% | — coag. 14' | + 1 gota $CaCl_2$ a 1% | — coag. 60' |
| + 1,5 gota » | — » 10' | + 1,5 gota » | — » |
| + 2 gotas » | — » 10' | + 2 gotas » | — » |
| + 2,5 gotas » | — » 10' | 2,5 gotas » | — » |

Como se vê, no sangue do coelho injetado não houve coagulação em tempo normal, apesar do cálcio adicionado.

Experiências feitas *in vitro* mostraram uma ação contrária. Quando o sangue é misturado na proporção de 5% até 10% e 20% do extrato, a coagulação se processa um pouco mais rapidamente que a do sangue não tratado. Em proporção maior, além de um retardamento na coagulação ha uma intensa hemolise.

Para explicar o fenômeno poder-se-iam fazer as seguintes hipóteses que devem ser objéto de verificação:

(a) Libertação de uma quantidade grande de heparina ou anti-protombina.

(b) Destruição do fibrinogenio.
(c) Inativação do fator fosfolipide (cefalina).
(d) Destruição da protombina.
(e) Falta de produção de protombina.

## COMENTÁRIOS SÔBRE O PRINCÍPIO ATIVO

O fáto do extrato da seiva das folhas de piteira ser tóxico para peixes e o de não perder o poder tóxico depois da fervura, bem como a indicação do livro do Dr. F. C. HOEHNE (1) sobre plantas tóxicas, levaram-nos a orientar nossas pesquizas no sentido de atribuir a uma saponina os efeitos exercidos pelo material pesquizado.

Realmente, procurando ver na literatura qual a sintomatologia do envenenamento pelas saponinas encontramos indicações interessantes. A esse propósito L. LEWIN e PAUCHET (2), tratando do assunto descrevem um quadro de sintomas muito parecido com o que observamos.

> As saponinas colocadas nas mucosas provocam sensação de queimadura, espirros, lacrimejamento e tosse, com secreção abundante. Não são senão pouco absorvidas pelo intestino.
>
> A injeção subcutânea da saponina do comércio segundo PELIKAN (Berlin. Klin. Wochenschr. 1867, p. 375) é seguida de desaparecimento da estriação muscular no ponto injetado, friabilidade das fibras musculares, paralisia dos musculos lisos dos vasos. Após contração passageira, os musculos não mais reagem á corrente elétrica. Assim também se verifica a paralisia dos nervos motores e sensitivos da visinhança.
>
> As saponinas, principalmente da casca das *Quillayas*, são venenos protoplasmáticos que provocam alterações anatomicas no ponto de administração; nas injeções venosas, essas lesões se localisam no fígado, intestino, etc. Nos animais as injeções feitas com pequenas doses de saponinas provocam a paralisia do coração e dos centros vaso-motores e respiratórios. No homem, segundo KEPPLER (Berlin. Klin. Wochenschr. 1878, p. 475-493 e 511), a saponina do comércio, na dóse de 0, gr. 2, causa tosse e grande secreção de muco pelas vias respiratórias. Sob a pele, na dóse de 0, gr. 01 a 0, gr. 1, provoca dôres e uma inflamação erisipelatosa (às vezes com bolhas), seguida de um endurecimento local de longa duração (12 dias a 1 ano). A anestesia local persiste durante cerca de 60 minutos. Os fenômenos gerais, segundo G. POUCHET (Scille e saponaires. Étude pharmacologique-Bulletin géneral de therapeutique. T. CXXXV — 1898, p. 193), consistem em nauseas, vomitos, salivação, sensações de frio e calor, com elevação de temperatura, cintilações oculares, palidez, depressão de forças e das faculdades intelectuais, perda da consciência, sôno extremamente profundo (o doente fica como em estado de morte aparente), exoftalmia e estrabismo, dôres tenebrantes nos globos oculares do mesmo lado da injeção, colapso e retardamento do pulso durante cinco dias depois da injeção.

(1) F. C. HOEHNE — *Plantas e Substâncias vegetais tóxicas e medicinais* — S. Paulo, 1939, p. 91.
(2) LEWIN et PAUCHET — *Traité de Toxicologie* — Don. 1908, Vol. I — pp. 607-608.

## IDENTIFICAÇÃO DA SAPONINA

Procurando fazer a pesquiza da saponina, empregamos a reação de KOFLER, FISCHER e NOVESELY (3) que tem por base a combinação da saponina com a colesterina e, posteriormente, a libertação da saponina da colesterina por meio do xilol a quente. A identificação da saponina libertada se faz por meio de hemolise.

O método consiste em tomar uma tira de papel-filtro cujos 2 cms. inferiores tenham sido embebidos numa solução alcoolica de colesterina a 1%. Essa porção impregnada de colesterina é seca e posta num tubo contendo cerca de 2 cc. de líquido a pesquisar e aí deixada cerca de 2 horas, de modo que sómente a parte que contem a colesterina fique em contacto com o líquido. Depois desse tempo corta-se e seca-se essa parte. Depois de seco, o fragmento de papel, posto num pequeno balão ou frasco de Erlemeyer contendo cerca de 8 a 10 cc. de xilol, é levado a um banho maria, onde deve permanecer durante 10 a 20 minutos. Em seguida retira-se e seca-se o fragmento de papel para ser cuidadosamente lavado em várias passagens de eter. Depois de bem lavado e secado é ele posto sôbre uma placa de agar-sangue de modo que toda a superfície do papel fique em contacto com a superfície de agar. Cerca de 2 horas mais tarde nos casos positivos, começa a aparecer em torno da tira de papel, um halo de hemolise devido à saponina. Esta reação, que é bastante sensível, deu resultados francamente positivos para o extrato estudado, permitindo concluir que na piteira existe uma saponina.

## CARACTERES DO LÍQUIDO

Como dissemos, o líquido obtido por comprenssão das folhas, deixado em repouso, fornece um precipitado flocoso pouco estável. Esse precipitado é insolúvel em alcool, no eter, na acetona e no CHCl3. Feita a centrifugação, a parte sobrenadante é representada por um líquido transparente de côr verde. Fervido este último líquido, nele se formará uma nova quantidade de precipitado com os mesmos caracteres do que se formou anteriormente. Porisso, para ser completa a separação das duas porções referidas, o processo consistiu em tomar a seiva, ferve-la e, depois, centrifuga-la. A parte líquida era pipetada e a parte sólida lavada e centrifugada várias vezes em água distilada ou em solução fisiológica, conforme o uso a que se destinava. O precipitado era suspenso e agitado em água, dando uma turvação de aspecto emulsoide bastante fino.

(3) L. KLEIN — Handbuch de Pflanzenanalyse — II Parte, p. 1.104.

## AÇÃO DA PARTE LÍQUIDA E DO PRECIPITADO

As injeções, tanto venosas como intra-peritoneais, da parte líquida e do precipitado mostraram-se dotadas das mesmas propriedades tóxicas que o líquido total fresco. Digno de nota, todavia, é o fáto da parte solida (precipitado) ser muito mais ativa que a líquida. Esse aumento de toxidez se mostra tanto nas injeções intra-peritoneais como nas injeções subcutâneas. As injeções venosas do líquido claro que resultava de 3 cc. do extrato, levavam, geralmente de 24 a 48 horas para matar um coelho de 2 kgs. O precipitado lavado e obtido da mesma quantidade de extrato em injeção intra-peritoneal matava coelhos do mesmo tamanho entre 6 e 12 horas.

Sobre peixes a parte sólida se mostra praticamente inativa, ao passo que a parte líquida, na proporção de 5% em água, foi suficiente para matar *Phallocerus caudimaculatus* (guarús) dentro de 10 minutos.

## REAÇÕES QUÍMICAS

A pesquiza da saponina na parte líquida e clara que se obtem logo depois da fervura não dá resultados positivos. Mais tarde dá essa reação. O precipitado resultante da fervura, depois de dissolvido pela sóda dá a reação da saponina. A parte líquida, tratada pelo líquido de Fehling, reduz grande quantidade de cobre. A parte precipitada do extrato não reduz o cobre.

Estas duas verificações induzem a pensar que, como glicoside que é, a saponina existente nas folhas da piteira separa-se, pelo calor numa sapogenina, altamente tóxica, e noutras substâncias menos tóxicas, contendo um hidrato de carbono que possivelmente é a glicose. Na seiva recentemente obtida o exame microscópico mostra diversas ráfides de oxalato de cálcio.

O extrato clorofórmico obtido da seiva da piteira dá, ao ser evaporado, um ligeiro resíduo insoluvel completamente destituido de ação tóxica quer para peixes quer para coelhos.

O resíduo aquoso obtido depois da separação do clorofórmio tem o aspecto de uma emulsão que, depois de evaporada, fornece uma substância deliquescente de côr pardacenta e gosto francamente adocicado e penetrante. Esta substância é insoluvel no eter, na acetona e no alcool. Na água dá uma emulsão opalescente, que é dotada, em menor gráo, das mesmas propriedades tóxicas do extrato fresco.

Resumindo, póde-se dizer que a piteira é uma planta cujas folhas contêm substâncias altamente tóxicas tanto para peixes como para animais de sangue quente, desde que a sua penetração no organismo seja provocada por via paraenteral.

Nesse extrato demonstra-se a existência de substância com propriedades de saponinas.

Pelo calor o extrato fornece um precipitado (Sapogenina?) insoluvel em água e dotado de grande poder tóxico para animais de sangue quente, porém não ictio-tóxico antes de solubilizado.

A parte líquida que se separa do precipitado contém um hidrato de carbono que reduz o licor de Fehling e é dotada de alto poder ictio-tóxico e de menor ação tóxica que o precipitado, para animais de sangue quente. Entre as propriedades do extrato figura a de exercer uma ação anticoagulante sobre o sangue, quando injetado em dóses relativamente altas.

RESUMO

Pelo que ficou exposto, de conformidade com algumas indicações da literatura, é a piteira uma planta dotada de propriedades tóxicas. A substância tóxica atúa intensamente sobre peixes quando colocada na água e intensamente sobre mamíferos quando usada por via paraenteral.

Entre os efeitos desconhecidos devemos citar a ação muito intensa sobre o figado, o rim e os vasos sanguíneos de pequeno calibre, e sobre a coagulação do sangue.

Nos extratos da planta obtem-se uma reação de saponina que pode ser facilmente demonstrada pela colesterina e hemolise. Contudo diversos fátos levam-nos a concluir pela existência de outras substâncias responsáveis por certos efeitos observados sobre as células animais.

## STUDIES ON THE TOXICITY OF AQUOUS EXTRACTS OF "FOURCRAEA GIGANTEA VENT."

*Abstract*

*According to a number of references the poisonous action of this plant on fishes [Phallocerus caudimaculatus (Hensel)] has been demonstrated. A marked toxicity also is demonstrated by the first time on mammals (rabbits and guinea-pigs), by means of venous, peritoneal or sub-cutaneous injections of the extracts prepared with isotonic salt solutions. Among the most conspicuous manifestations of its action, excitement, drowsiness and coma are to be mentioned, preceeding death. Examination of the organs and tissues after death shows severe lesions on kidneys, liver, myocardium, lungs and on the small blood vessels. Animals receiving peritoneal injections show large amounts of fluid retained in their serous cavities and considerable edematous thickning of the abdominal wall. In cases of venous*

*injections, an increase of the coagulations time of the blood is observed. After proper treatment of the extracts by cholesterol the saponin reaction by means of hemolysis is demonstrated, however, a number of evidences lead to the conclusion that other active substances exist in the plant responsible for the effects on the animal cells.*

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 34

Fig. *A* — Tubo 1 — Seiva de piteira *(Fourcraea gigantea)* recentemente obtida por torsão das folhas. Tubo 2 — Seiva, duas horas depois de obtida, mostrando depósito de um precipitado no fundo do tubo.

Fig. *B* — Reação da saponina pela hemolise numa placa com agar-sangue. O circulo mostra a área de hemólise em torno de um fragmento de extrato seco da folha de piteira.

O triângulo mostra a zona de hemolise em torno de um retalho de papel embebido em solução de saponina alba, de Merck. O retangulo mostra a área de hemolise em torno de um retalho de papel embebido em seiva de piteira, depois de feito o tratamento pela colesterina, xilol e eter. O quadrado da parte inferior mostra ausência de hemólise num retalho de papel testemunha, apenas tratado pela colesterina, xilol e eter.

Figs. *C* e *D* — Ráfides de cristais birefringentes de oxalato de cálcio encontrados no precipitado da seiva de piteira, vistos com luz polarizada.

Fig. *E* — Fragmentos deliquescentes de extrato aquoso seco da seiva de piteira, vistos ao microscópio.

### Estampa 35

Fig. *A* — Fibras do miocárdio de um coelho que morreu cerca de 6 horas depois de uma injeção de 3 cc. de seiva de piteira.

As fibras perderam a estriação normal e começam a se fragmentar.

Fig. *B* — Fibras do miocárdio de um coelho que morreu cerca de 30 horas depois de receber uma injeção de 5 cc. de extrato aquoso de folhas de piteira. As fibras perderam a estriação normal e têm o protoplasma fragmentado e granuloso.

Fig. *C* — Pulmão de um coelho injetado com solução de saponina alba (Merck). Morte cerca de 10 horas após a injeção. Alveolos edemaciados e septos alveolares em vias de desintegração.

Fig. *D* — Figado de coelho injetado com 3 cc. de seiva de piteira e morto 6 horas depois. Os núcleos estão tomados de cromatolise. As células hepáticas têm o protoplasma cheio de granulos de substância proteica e gordurosa.

Fig. *E* — Figado de coelho injetado com 5 cc. de extrato aquoso de folhas de piteira e morto cerca de 30 horas mais tarde. Além da cromatolise dos núcleos ha grande quantidade de grânulos proteicos e de vacuolos deixados por gotículas gordurosas. Veem-se também diversas formações hialinas, ameboides, resultantes de células que se necrosaram.

Fig. *F* — Figado de coelho injetado com solução de saponina alba (Merck). Os núcleos estão mais conservados e a lesão hepática aparece sob a forma de necróses hemorrágicas em fócos isolados.

Fig. *G* — Rim de coelho injetado com 3 cc. de seiva de piteira e morto 6 horas mais tarde.
Ha extensas lesões interessando principalmente os tubos contornados, cujos epitélios se necrosam e cáem na cavidade tubular formando cilindros celulares. Entre a membrana basal e o revestimento epitelial notam-se grandes espaços vasios resultantes de edema e do destacamento dos epitélios.

Fig. *H* — Rim de coelho injetado com 5 cc. de extrato aquoso de piteira e morto cerca de 30 horas mais tarde. As células epiteliais dos tubos contornados estão necrosadas e destacadas da membrana basal. Além de números cilindros granulosos ha notavel degeneração gordurosa e começo de infiltração inflamatória.

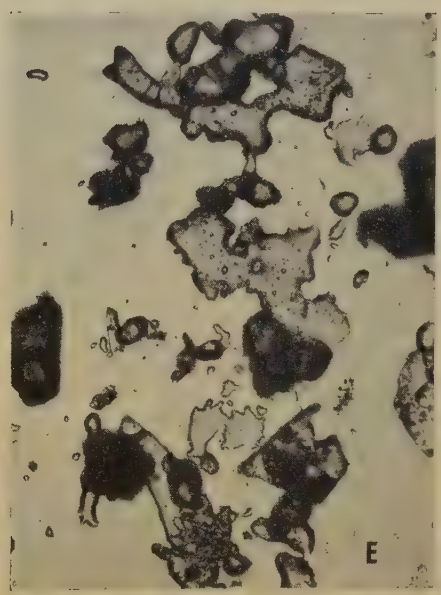
Fig. *I* — Rim de coelho injetado com solução de saponina alba (Merck). Extensas e graves necróses epiteliais nos tubos contornados.

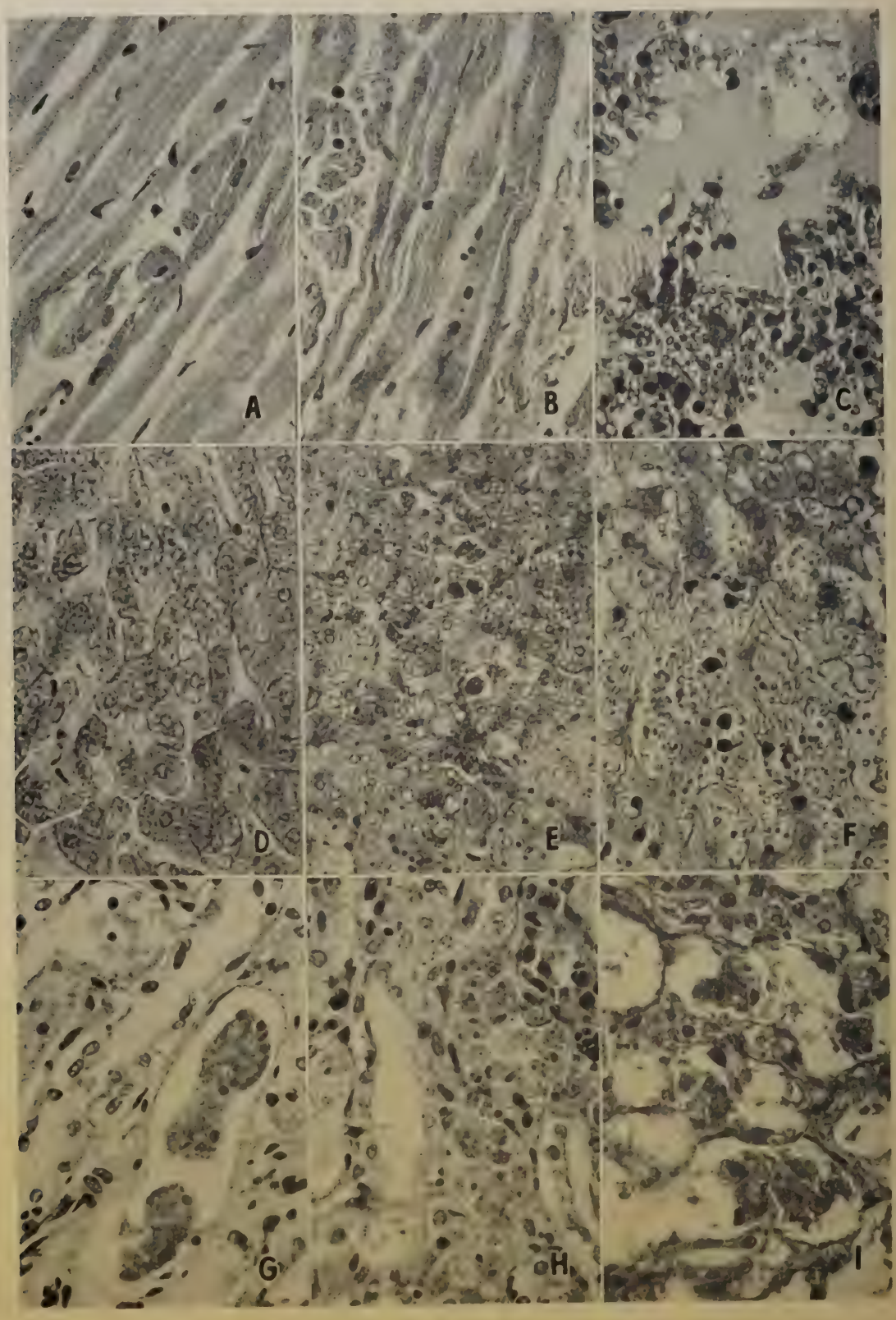
A

B

C

D


E


A
B
C
D
E
F
G
H
I

Vol. 13 — Art. 17 Dezembro de 1942

# DESCRIÇÃO DE ONZE ESPÉCIES NOVAS DE COCCÍDEOS DO BRASIL (HOMOPTERA-COCCOIDEA)

POR

H. S. Lepage

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 51 figuras no texto

Neste trabalho acham-se descritas onze espécies novas de coccídeos pertencentes à família *Diaspididae*, sendo dez coligidas no Estado de São Paulo e uma em Minas Gerais. Seis das espécies aqui tratadas pertencem à tribu *Diaspidini* e cinco à tribu *Aspidiotini*, ambas da subfamília *Diaspidinae*.

## *Dinaspis paulistana*, n. sp.

Figs. 1 a 7

Corpo de fêmea adulta, longo, com cerca de 2 milímetros de comprimento, sendo formado, cerca de metade, pelo mesotorax, que é grandemente desenvolvido. Derme da fêmea na maturidade, fortemente esclerosada, tanto na face dorsal como na ventral, desde a cabeça até o primeiro segmento abdominal. Segundo, terceiro e quatro segmentos abdominais membranosos, com expansões lobulares laterais apresentando respectivamente três, três e um "gland-spine". Pigidio arredondado, formado pelos cinco segmentos abdominais seguintes, apresentando três pares de lóbulos. Lóbulos do par mediano afastados, arredondados, ligeiramente divergentes, apresentando duas pequenas incisões na face livre. Lóbulos do segundo par nitidamente bilobados, isto é, divididos em duas partes por uma profunda incisão, sendo a mais próxima do lóbulo mediano um pouco maior que a outra. Terceiro par de lóbulos arredondados, simples, com margens lisas. Nas bases dos lóbulos encontramos espinhos curtos, sendo dois no lóbulo mediano e um em cada um dos outros. Entre os lóbulos notam-se ainda placas glandulares, "gland-spine", dispostas duas no espaço mediano, e uma em cada espaço interlobular seguinte. Na face dorsal encontramos seis pares de grandes macroductos marginais com aberturas situadas, respectivamente, uma no espaço interlobular entre o primeiro e o segundo lóbulos, duas entre o segundo e terceiro lóbulos e três igualmente espaçadas, dispostas em três indentações do pigidio. Ductos semelhantes, de dimensões pouco menores, são encontrados nas margens das projeções lobulares do segundo, terceiro e quarto segmento abdominais. Ductos submarginais irregularmente dispostos. Ventralmente o pigidio apresenta áreas esclerosadas como se vê no desenho junto. Póros perivulvares presentes em 4 grupos. Anus situado quasi na base do pigidio, pequeno.

Escudo da fêmea adulta, de côr preta, medindo 2,5 milímetros de comprimento, com exuvias amarelas terminais. Escudo do macho, semelhante, porem mais curto.

*Habitat* — Colhido pelo autor em folhas de uma *Combretacea*, no Jardim da Luz, em São Paulo, Capital, e em planta silvestre na Ilha Porchat, município de São Vicente, em 26-5-42.

Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

## *Niveaspis cattleyae*, n. sp.

Figs. 8 a 12

Fêmea adulta de côr amarelada, medindo em lamina cerca de 1,2 milímetros, tendo dois terços do corpo formado pelos segmentos da cabeça e torax. Antenas representadas por simples tubérculos com pêlos. Nota-se entre as antenas uma saliencia tuberculiforme, presente em todas as espécies deste gênero. Estigmas torácicos situados, os anteriores, aos lados do aparelho bucal, e os posteriores na extremidade posterior do terço médio do corpo. Pigidio de forma arredondada apresentando dois pares bem definidos de lóbulos. O par mediano constituido por lóbulos arredondados, não zigóticos, apresentando dois entalhes mais ou menos simétricos, um na margem interna e outro na externa; lóbulos do segundo par, tambem bem desenvolvidos, bilobados, isto é, apresentando uma incisão que divide o lóbulo em duas partes, sendo maior a parte mais próxima da linha mediana. Na margem do pigidio, na face dorsal, verifica-se, de cada lado, a presença de cinco grandes macroductos, mais ou menos equidistantes uns dos outros, sendo o primeiro entre o primeiro e segundo lóbulo e os outros situados cada um em uma incisão da margem. Ha tambem, de cada lado, uma sexta "two barred" glândula, colocada a distancia dupla após a quinta. Fóra da margem, isto é entre o anus e a margem externa, ha duas "two barred" glândulas. Placas glandulares longas entre os lóbulos, uma entre os medianos, uma entre os primeiro e segundo lóbulos, e uma logo após o segundo, bem mais longas que os lóbulos. Anus pequeno no centro do pigidio. Na face ventral, ha dois pares de áreas esclerosadas triangulares, alongadas, com o vértice para cima e base nos lóbulos, encontradas em todas as espécies deste gênero.

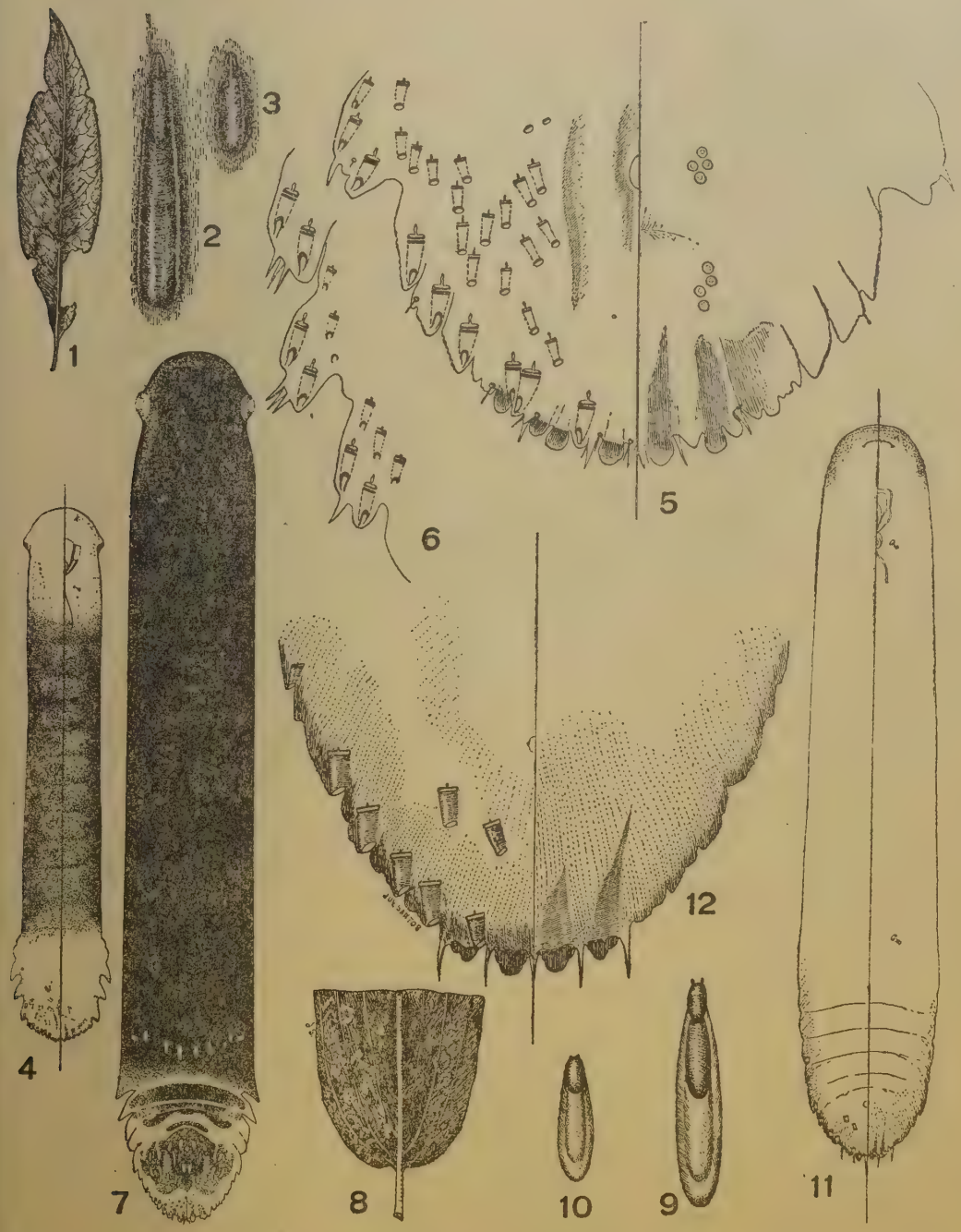
Esta espécie aproxima-se de *Niveaspis insularis* LEPAGE e *Niveaspis hempeli* (LEPAGE) das quais porém se distingue pela forma dos lóbulos e posição das "two barred" glândulas.

Escudo da fêmea adulta de côr branco-assetinada, longo, estreito, às vezes reto, outras vezes ligeiramente recurvado em forma de virgula, com as exúvias larvais, que são de coloração amarelo-alaranjada na extremidade anterior. O escudo feminino mede 1,5 a 2,0 milímetros de comprimento por 0,15 a 0,2 milímetros de largura.

Escudo do macho, semelhante ao da fêmea em aspéto e côr, porem curto com uma exúvia apenas, em uma extremidade.

*Habitat* — Colhido sobre folhas de *Orquidácea*, na Cantareira, na chácara do Sr. HARRY BLOSFELD, em 16-6-1941.

Material tipo — Incorporado às coleções do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.




*Dinaspis paulistana*, n. sp. (Figs. 1 a 7). Fig. 1 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 2 - Escudo feminino; Fig. 3 - Escudo masculino; Fig. 4 - Fêmea adulta, aumentada × 30; Fig. 5 - Pigidio da fêmea adulta, × 225; Fig. 6 - Segmentos 2, 3 e 4 abdominais da fêmea adulta, × 225; Fig. 7 - Fêmea adulta com o corpo quasi totalmente esclerosado, × 55. *Niveaspis cattleyae*, n. sp. (Figs. 8 a 12). Fig. 8 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 9 - Escudo feminino; Fig. 10 - Escudo masculino; Fig. 11 - Fêmea adulta, aumentada × 80; Fig. 12 - Pigidio da fêmea adulta, × 225.

## *Pseudoparlatoria circularis*, n. sp.

Figs. 13 a 16

Fêmea adulta de corpo quasi perfeitamente circular, medindo em lamina 0,8 milímetros de diametro em média. Derme membranosa, com exceção do pigidio, onde ha tendência a esclerosação. Antenas representadas por um simples tubérculo com um pêlo. Estigmas traqueais normais, sem discos glandulares. Pigidio largo, com ângulo de cerca de 170°, com três pares de lóbulos. Lóbulos medianos desenvolvidos, com duas incisões na margem externa e apresentando na base uma esclerose transveral; lóbulos do segundo par bilobados, com margens lisas, e os do terceiro fracamente desenvolvidos. Entre os lóbulos medianos encontramos uma placa glandular bífida, característica do gênero, e nos espaços interlobulares seguintes uma placa glandular simples em cada espaço interlobular. Nas bases dos lóbulos encontramos tambem, na face dorsal, espinhos bem desenvolvidos. Macroductos marginais dispostos da seguinte maneira: um simples entre o lóbulo mediano e segundo par, dois entre o segundo e terceiro lóbulos, um após o terceiro lóbulo. Ductos submarginais em grande número. Na face ventral encontramos duas áreas esclerosadas, como se vê no desenho que ilustra a descrição. Ductos de reduzidas dimensões presentes nos segmentos torácicos. Póros perivulvar em 4 grupos bem distintos. Anus relativamente grande, situado próximo da extremidade posterior do pigidio. Escudo da fêmea adulta circular, medindo cerca de 1,2 milímetros de diametro, de côr castanha escura, com orla externa amarela e com exúvias amarelas subcentrais. Escudo masculino alongado, medindo cerca de 0,8 milimetros, amarelo claro, com exúvia terminal. Os machos adultos não foram encontrados.

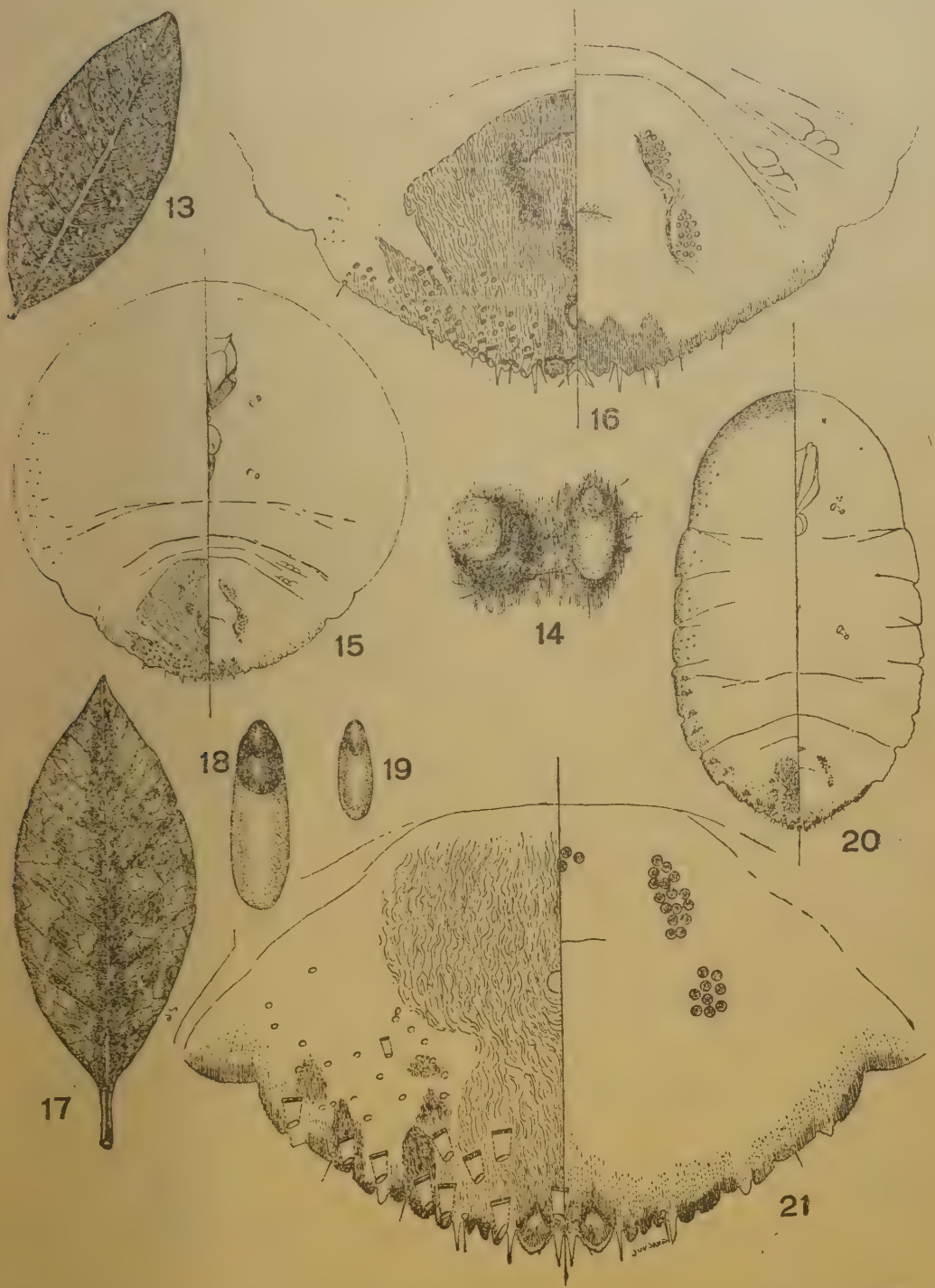
*Habitat* — Colhido pelo autor em uma folha de planta silvestre, em Campos do Jordão, em 12-12-1941.

Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

## *Pseudoparlatoria aberrans*, n. sp.

Figs. 17 a 21

Corpo da fêmea adulta alongado, medindo em lamina 1,1 milímetros. Derme fina e transparente, com exceção do contôrno da região cefálica e pigidio, onde ha uma tendência a esclerosação. Antenas representadas por um tubérculo com três pêlos. Estigmas traquiais com três discos glandulares. Pigidio arredondado com ângulo de mais de 90°, apresentando três pares de lóbulos. Lóbulos medianos arredondados, com margem crenulada, estriados radialmente e apresentando nas bases escleroses convergentes muito características. Os lóbulos medianos são separados por uma placa glandular bífida; segundo par de lóbulos bilobados, apresentando entalhes que dão um aspéto triangular a cada uma das partes; terceiro par de lóbulos bem desenvolvido, com o contôrno crenulado. Nos espaços interlobulares entre o primeiro e segundo e segundo e terceiro lóbulo, encontramos uma placa glandular simples. Notam-se ainda espinhos marginais nas bases de todos os lóbulos. Macroductos marginais presentes, um no espaço interlobular mediano, um entre o primeiro e segundo lóbulos, e dois no espaço entre o segundo e terceiro




*Pseudoparlatoria circularis*, n. sp. (Figs. 13 a 16). Fig. 13 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 14 - Escudo feminino e masculino; Fig. 15 - Fêmea adulta, × 60; Fig. 16 - Pigidio da fêmea adulta, × 225. *Pseudoparlatoria aberrans*, n. sp. (Figs. 17 a 21). Fig. 17 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 18 - Escudo feminino; Fig. 19 - Escudo masculino; Fig. 20 - Fêmea adulta, × 50; Fig. 21 - Pigidio da fêmea adulta, × 225.

lóbulos. Para além do terceiro lóbulo ainda encontramos três macroductos submarginais de dimensões iguais aos marginais e macroductos menores nos segmentos prepigidiais. Macroductos submarginais em número reduzido, irregularmente dispostos. Na face dorsal encontramos uma grande área esclerosada, como se verifica no desenho anexo, além de outras pequenas áreas isoladas laterais. Poros perivulvar presentes em cinco grupos. Anus pequeno, no centro do pigidio.

Escudo da fêmea adulta alongado, medindo, em média 2,2 milímetros de comprimento, de côr castanho-clara rosada, com exúvias de côr preta terminais.

Escudo masculino alongado, de côr branca, medindo 1 milímetro, com exúvia preta terminal.

*Habitat* — Colhido em folhas de planta silvestre, em Osasco, pelo Sr. OVIDIO COSTA, em 29-3-1942. Os escudos femininos localisam-se na nervura mediana das folhas e são muitas vezes recobertos por algas, que os tornam quasi imperceptiveis.

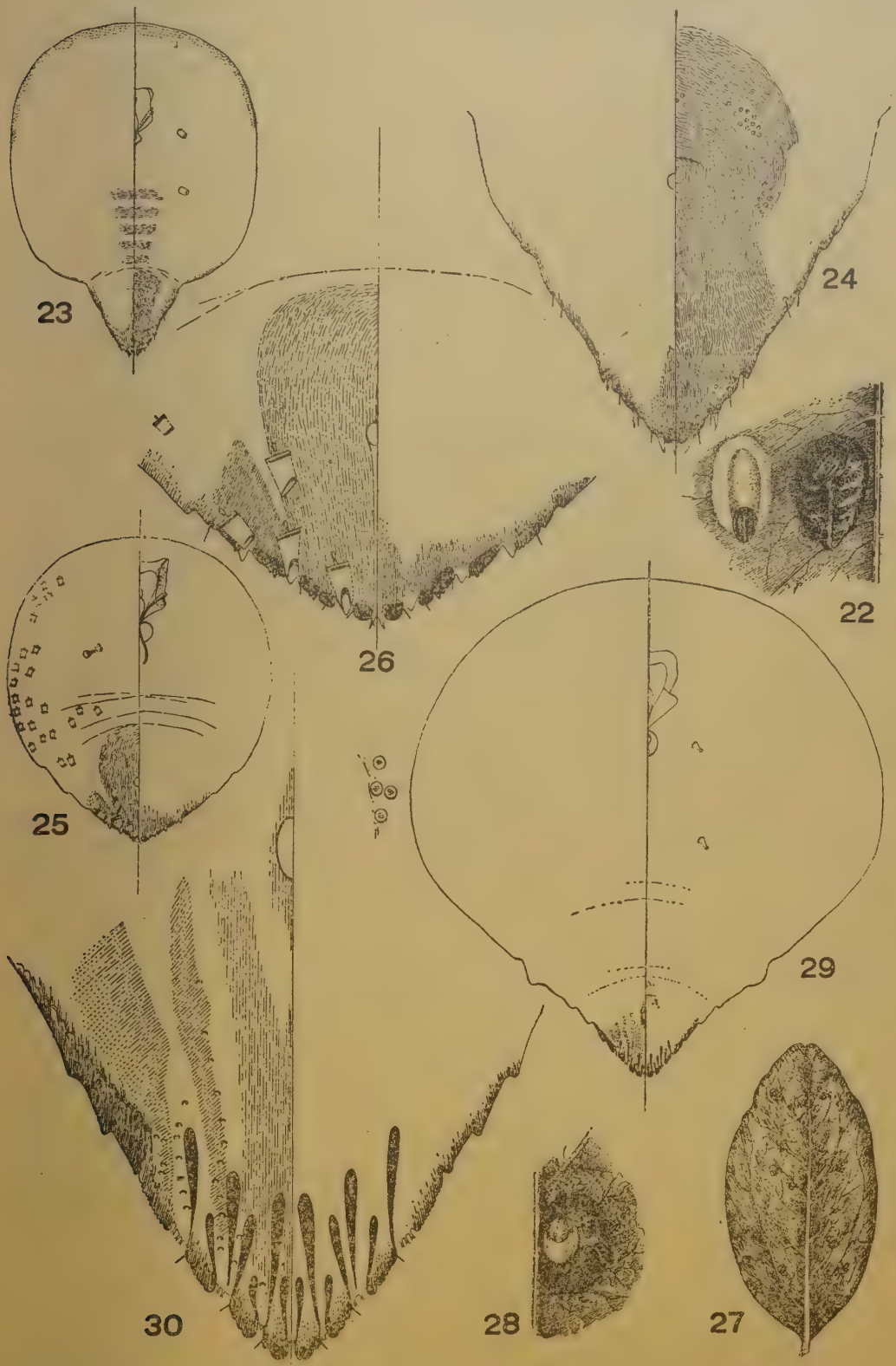
Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

No terceiro volume de seu trabalho "Atlas of the Scale insects of North America", o Professor G. F. FERRIS criou o gênero *Trigonaspis* com *Trigonaspis inclusa* para o seu genotipo. De acôrdo com o pensamento do autor, tambem deveriam ser transferidas para este gênero as espécies *Costalimaspis atibaiensis* LEPAGE e *Costalimaspis cheloniformis* LEPAGE. Julgo acertado o critério adotado por FERRIS para a transferência das minhas duas espécies para o gênero *Trigonaspis*. De fáto, o gênero *Trigonaspis* pertence à serie *Pseudoparlatoria*, enquanto *Costalimaspis* pertence à serie *Diaspis*. Nessas condições, fica no meu gênero *Costalimaspis* apenas a espécie *C. eugeniae*, seu genotipo, que apresenta caracteres distintos das outras duas. Da mesma maneira, *Costalimaspis lepagei* SILVESTRI, da Argentina, deverá ser transferida para *Trigonaspis* pelas mesmas razões apontadas por FERRIS.

Em fins do ano passado, o entomologista OSCAR MONTE remeteu-me material de um coccídeo encontrado juntamente com aleirodideos sobre folhas de Herva-de-passarinho. Tal material lhe havia sido remetido pelo Sr. Dr. RENATO XAVIER DE ALMEIDA, do município de Pará, em Minas Gerais. Examinando o coccídeo verifiquei que se tratava de uma nova espécie do gênero *Trigonaspis* FERRIS. Esta nova

---

*Trigonaspis Montei*, n. sp. (Figs. 22 a 26). Fig. 22 - Escudos femininos e masculinos; Fig. 23 - Fêmea adulta, × 45; Fig. 24 - Pigidio da fêmea adulta, × 225; Fig. 25 - Fêmea do segundo estadio larval, × 15; Fig. 26 - Pigidio da fêmea do segundo estadio larval, × 225. *Acutaspis litorana*, n. sp. (Figs. 27 a 30). Fig. 27 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 28 - Escudo feminino; Fig. 29 - Fêmea adulta, × 70; Fig. 30 - Pigidio de fêmea adulta, × 225.




Explicação das Figuras, vide à pag. 178.

espécie, que designarei por *Trigonaspis Montei*, em homenagem ao distinto colega, aproxima-se de *Trigonaspis lepagei* (SILVESTRI), da qual facilmente se distingue pela forma do escudo, forma da fêmea adulta, etc.

### *Trigonaspis Montei*, n. sp.

Figs. 22 a 26

Fêmea adulta de forma quadrangular, medindo em lamina cerca de 1 milímetro de comprimento, com ângulos arredondados, com pigideo emergindo do centro de um dos lados. Fêmea adulta encontrada no interior da exúvia da segunda forma larval. Tegumento da fêmea adulta delicado, transparente, com exceção do pigidio, onde ha uma ligeira tendência a esclerosação. Pigidio agudo, de forma mais ou menos triangular. Lóbulos medianos de forma mais ou menos triangular, com lados dentados; segundo par de lóbulos apenas representado por segmento da margem mais esclerosada e serreada; lóbulos do terceiro par pouco distinguiveis. Entre os lóbulos medianos e entre os demais encontramos placas bem desenvolvidas. Na fêmea adulta ha ausencia absoluta de macroductos, notando-se apenas raros microductos que se originam de espinhos glandulares. Póros perivulvares presentes em cinco grupos. Na face ventral notamos no pigidio uma grande área definida, mais esclerosada, como se vê no desenho que ilustra esta descrição. Anus pequeno, situado bem distante da extremidade do pigidio.

Segundo estadio larval de forma arredondada, com pigidio apresentando ângulo bem maior que 90°, apresentando três pares de lóbulos. Lóbulos medianos arredondados, afastados; lóbulos do segundo par bastante largos, bilobados, sendo a parte mais próxima da linha mediana arredondada e a outra serreada; terceiro par serreado. Entre os lóbulos medianos notamos uma placa bífida que caracterisa a serie *Pseudoparlatoria*.

Na margem do pigidio, do lado dorsal, vemos vários espinhos marginais, e na mesma face encontramos três grandes macroductos situados nos espaços interlobulares dos primeiros, segundos e terceiros lóbulos, nenhum no espaço mediano, e um submarginal, situado acima do terceiro lóbulo. Ainda encontramos macroductos e submarginais, em quasi todos os segmentos do corpo.

Escudo feminino de côr preta, medindo cerca de 2 mm, formado pela exúvia do segundo estadio larval que encobre completamente a fêmea adulta. No escudo feminino encontramos apenas a primeira exúvia, situada subcentralmente. O escudo masculino é de côr branca, alongado com exúvia terminal.

Não foram encontrados machos adultos.

*Habitat* — Colhido em folhas de Herva-de-passarinho (*Loranthus* sp.) pelo Dr. RENATO XAVIER, em Minas Gerais.

Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

### *Acutaspis litorana*, n. sp.

Figs. 27 a 30

Fêmea adulta medindo em lâmina cerca de 1 milímetro de comprimento, apresentando a região prosomática circular e a postsomática terminando em pigidio

agudo. Derme membranosa com tendência a esclerosação em toda a margem do corpo e notadamente no pigidio, onde na maturidade as fêmeas se tornam fortemente esclerosadas. Não encontramos nesta espécie nenhuma esclerosação tuberculiforme presente em várias espécies deste gênero, ao nivel dos estigmas posteriores. Antenas reduzidas, apenas representadas por um tubérculo com um pêlo longo. Estigmas traquiais normais, sem a presença de discos glandulares. Pigidio apresentando ângulo agudo, com 4 pares de lóbulos, sendo o quarto apenas representado por uma proeminência. Lóbulos medianos não zigóticos, arredondados, apresentando um entalhe; lóbulos do segundo par mais largos que os anteriores, com dois entalhes na margem; lóbulos do terceiro par mais largos que os outros, com cinco entalhes; lóbulos do quarto par apenas representados por uma saliência na margem do pigidio. Para além do quarto par o pigidio apresenta três indentações. Entre os lóbulos ha placas delicadas e de dimensões reduzidas. No pigidio notamos ainda a presença de sete pares de paráfises, sendo três mais longas e quatro menores, estas porem desiguais entre si. As paráfises acham-se dispostas da seguinte maneira, de cada lado da linha mediana, de conformidade com o desenho (fig. 30) que ilustra esta descrição: uma curta e uma longa, respectivamente no ângulo basal interno e externo do lóbulo mediano; duas curtas, situadas uma em cada ângulo basal do segundo lóbulo; uma paráfise longa no espaço interlobular entre o segundo e terceiro lóbulo; uma paráfise curta e uma longa, respectivamente no ângulo basal interno e externo do terceiro lóbulo. Para além do terceiro lóbulo não ha peráfises. Dorso do pigidio apresentando as áreas esclerosadas características do gênero. Ductos dorsais longos, finos e com as aberturas situadas em fileiras nos espaços interlobulares, principalmente entre o segundo e terceiro lóbulo. Anus situado mais ou menos na base do pigidio. Poros perivulvares em quatro grupos com número reduzido de poros.

Escudo feminino irregularmente circular, medindo cerca de 2 milímetros de diametro, de côr marron escura, quasi preta, com exúvias amarelas subcentrais. Escudo masculino curto, alongado com exúvia terminal.

*Habitat* — Colhido em 1934 pelo entomologista PINTO DA FONSECA, na Ilha dos Alcatrazes, litoral do Estado de São Paulo, sobre planta silvestre.

Material tipo — Incorporado às coleções do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), no Departamento de Zoologia, e na do autor.

Neste gênero *Acutaspis*, recentemente criado por FERRIS, estão incluidas três espécies já encontradas no território brasileiro, *A. perseae* (COMSTOCK), *A. scutiformis* (COCKERELL) e *A. umbonifera* (NEWSTEAD), sendo esta última recentemente colhida pelo autor sobre planta silvestre em Santos. A espécie nova *litorana*, distingue-se facilmente das demais pela forma do corpo, dos lóbulos e disposição das paráfises.

### *Dynaspidiotus Sanctadelaidae*, n. sp.

Figs. 31 a 34

Fêmea adulta de corpo mais ou menos circular medindo em lâmina cerca de 1,3 milímetros. Derme membranosa com exceção do pigidio, onde ha tendência

a esclerosação, e tambem no contôrno do corpo onde, na completa maturidade as fêmeas apresentam essa mesma tendência. Pigidio com ângulo muito largo, apresentando três pares de lóbulos distintos e mais ou menos da mesma forma. Lóbulos medianos não zigóticos, arredondados, com duas pequenas incisões na margem externa; lóbulos do segundo par não bilobados, da mesma forma e dimensões que os medianos, com incisões semelhantes; lóbulos do terceiro par semelhantes aos outros, porém mais estreitos. Nos lóbulos medianos e no segundo par notamos a presença de pequenas escleroses basais pouco desenvolvidas, que não são encontradas nos lóbulos do terceiro par. Notamos ainda, na face externa dos lóbulos do lado dorsal, a presença de um espinho em cada lóbulo. Entre os lóbulos encontramos placas franjeadas, com a seguinte distribuição: duas no espaço interlobular mediano, duas no espaço entre os primeiros e segundos lóbulos, três entre o segundo e terceiro lóbulo, e de sete a dez placas variavelmente franjeadas após os terceiros lóbulos. Ductos dorsais unibarrados, longos e finos, limitados aos segmentos pigidiais, com tendência a formar carreira, principalmente no espaço entre os lóbulos do segundo e terceiro par. Ha um simples ducto presente no espaço interlobular mediano. Nos segmentos prepigidiais encontramos ductos curtos e finos. Anus grande, situado próximo da base dos lóbulos medianos.

Póros perivulvares presentes em 4 grupos. Escudo da fêmea, de côr branca, mais ou menos circular, com cerca de 1,8 milímetros de diametro, com exúvias de côr amarela, subcentrais. Escudo masculino da mesma côr, estreito, alongado com exúvia terminal.

*Habitat* — Encontrado em grande abundância pelo autor em folhas de *Araucaria brasiliensis* na Chácara Santa Adelaide, do Ginasio das Conegas de Sto. Agostinho, em Campos do Jordão em 24-12-41.

Material tipo — Incorporado às coleções do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

A espécie em apreço aproxima-se de *Dynaspidiotus britanicus* (NEWSTEAD) da qual porem facilmente se distingue pelas dimensões, forma de lóbulos, número das placas franjeadas, etc.

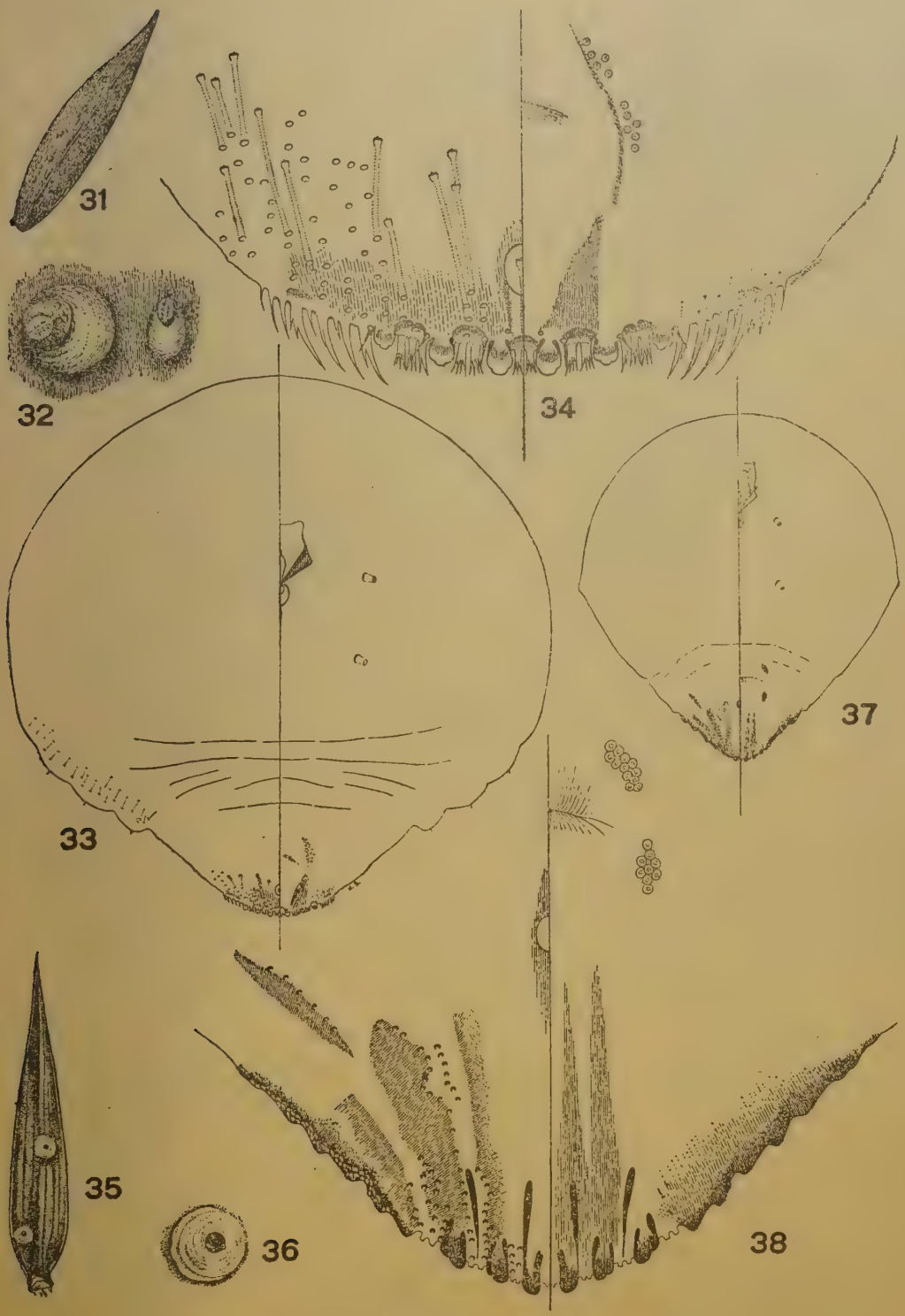
## *Melanaspis araucariae*, n. sp.

Figs. 35 a 38

Fêmea adulta com o corpo mais ou menos circular, apresentando porem ao nivel dos estigmas posteriores duas pequenas saliências tuberculiformes. Em lâmina, a fêmea adulta mede cerca de 2 milímetros de comprimento, tendo a derme fina e transparente, com exceção do pigidio, onde ha tendência a esclerosação. Antenas representadas por simples tuberculos com um pêlo. Estigmas traqueais sem discos glandulares. Pigidio com ângulo mais ou menos reto, apresentando

---

*Dynaspidiotus Sanctadelaidae*, n. sp. (Figs. 31 a 34). Fig. 31 - Folha de pinheiro atacada, metade do tamanho natural; Fig. 32 - Escudos masculinos e femininos; Fig. 33 - Fêmea adulta, × 55; Fig. 34 - Pigidio da fêmea adulta, × 225. *Melanaspis araucariae*, n. sp. (Figs. 35 a 38). Fig. 35 - Folha atacada, ¾ do tamanho natural; Fig. 36 - Escudo feminino; Fig. 37 - Fêmea adulta, × 23; Fig. 38 - Pigidio da fêmea adulta, × 225.




Explicação das Figuras, vide à pag. 182

três pares de lóbulos bem distintos. Lóbulos do par mediano mais estreitos que os demais, com margens arredondadas lisas; lóbulos do segundo par mais largos que os medianos, apresentando um entalhe; lóbulos do terceiro par mais largos que os do segundo, apresentando um entalhe na face livre. Para além do terceiro par de lóbulos o pigidio apresenta-se esclerosado nas margens e com cinco ou mais indentações. No pigidio encontramos ainda sete pares de paráfises ou escleroses, sendo dois pares de paráfises longas e as demais curtas, dispostas da seguinte maneira de cada lado da linha mediana: uma paráfise especial ou processo esclerosado curto, com extremidade dividida ao meio no ângulo interno do lóbulo mediano, uma paráfise longa no ângulo externo do mesmo lóbulo; duas paráfises curtas situadas uma em cada ângulo basal do segundo lóbulo; uma paráfise longa no espaço interlobular entre o segundo e terceiro lóbulos, e finalmente duas paráfises curtas localisadas em cada ângulo basal do terceiro lóbulo.

Na face dorsal do pigidio nota-se a presença das três áreas esclerosadas típicas do gênero, conforme se vê no desenho (fig. 38) que ilustra esta descrição. Ductos unibarrados com aberturas localisadas nos espaços interlobulares, com tendência a formarem fileiras. Após o terceiro lóbulo ha um grande número de aberturas de ductos, havendo ductos que se abrem na terceira área esclerosada. Anus pequeno, situado longe da extremidade do pigidio; póros perivulvares presentes em quatro grupos.

Escudo feminino circular de côr branca, medindo 3 milímetros de comprimento com exúvias de côr preta, centrais. Não foram encontrados escudos masculinos.

*Habitat* — Colhido pelo autor, em folhas de *Araucaria brasiliensis*, na chácara Sta. Adelaide (altitude de 1.600 metros), em Capivarí, Campos do Jordão, em Dezembro de 1941.

Material tipo — Incorporado às coleções do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

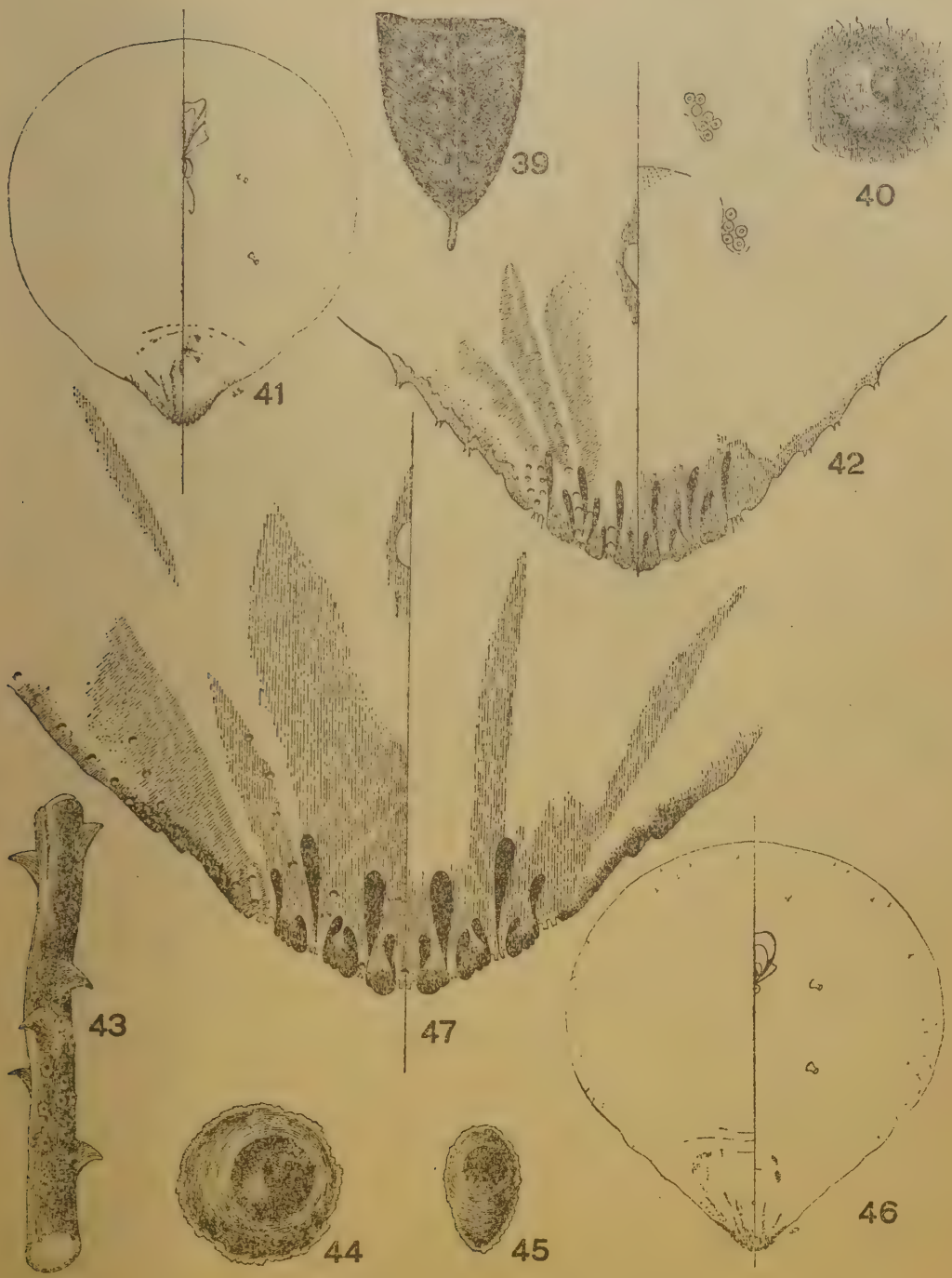
Aproxima-se de *Melanaspis paulista* (HEMPEL), da qual facilmente se distingue pelas dimensões, pela forma e dimensões de lóbulos, que nesta espécie são maiores, à medida que se afasta da linha mediana, ao contrário da *paulista*, onde decrescem a partir do centro.

### *Melanaspis Figueiredoi*, n. sp.

Figs. 39 a 42

Fêmea adulta de corpo mais ou menos arredondado, medindo em lâmina cerca de 1,5 milímetros. Derme, na maturidade, fina e transparente, com exceção da extremidade pigidial, onde apresenta, nas margens, tendência a esclerosação.

Pigidio com ângulo de cerca de 90°, apresentando quatro pares de lóbulos. Lóbulos do par mediano, arredondados, não zigóticos, apresentando um pequeno entalhe na face externa; lóbulos do segundo par um pouco mais largos que os medianos, apresentando dois entalhes na face externa; lóbulos do terceiro par mais largos que os do segundo, com cinco entalhes; quarto par de lóbulos apenas representado por uma saliência esclerosada serreada. Para além do quarto par de lóbulos a margem do pigidio apresenta-se finamente serreada com quatro indentações espaçados mais pronunciadas, havendo próximo a cada uma destas saliências, uma pequena placa característica.




*Melanaspis Figueiredoi*, n. sp. (Figs. 39 a 42). Fig. 39 - Folha atacada, metade do tamanho natural; Fig. 40 - Escudo feminino; Fig. 41 - Fêmea adulta, × 32; Fig. 42 - Pigidio da fêmea adulta, × 225. *Melanaspis Martinsi*, n. sp. (Figs. 43 a 47). Fig. 43 - Galho atacado, ¾ do tamanho natural; Fig. 44 - Escudo feminino; Fig. 45 - Escudo masculino; Fig. 46 - Fêmea adulta, × 30; Fig. 47 - Pigidio da fêmea adulta, × 225.

Nos espaços interlobulares notam-se placas de reduzidissimas dimensões. No pigidio notam-se sete pares de escleroses ou paráfises bem desenvolvidas, sendo três pares de paráfises longas e quatro de paráfises menores, distribuidas da seguinte maneira de cada lado da linha mediana: uma paráfise curta no ângulo interno do lóbulo mediano; uma paráfise longa no ângulo externo do lóbulo mediano; duas paráfises, uma curta e uma longa, situadas respectivamente em cada ângulo interno e externo dos segundos lóbulos; uma paráfise longa no espaço interlobular entre o segundo e terceiro lóbulo, e finalmente duas paráfises, uma curta e uma longa, respectivamente no ângulo interno e externo do terceiro lóbulo. Dorso do pigidio apresentando as três áreas esclerosadas típicas do gênero. A primeira área se estende desde a margem externa dos segundos lóbulos para o interior do pigidio, alargando-se para a parte posterior. O segundo par de áreas esclerosadas, ou segundas áreas, nascem na base dos terceiros lóbulos, estendendo-se para traz, inclinadas lateralmente, apresentando aberturas de glândulas. O terceiro par de áreas esclerosadas estriadas origina-se na base dos quartos lóbulos, espandindo-se lateralmente. Ductos dorsais em número reduzido, porem longos, tendo os orifícios situados nos espaços interlobulares e nas áreas esclerosadas dorsais, principalmente na mediana. Póros perivulvares presentes em quatro grupos de quatro a dez glândulas. Anus situado no centro do pigidio, no meio da linha que liga a vulva à extremidade do pigidio.

Escudo feminino com cerca de 2,0 milímetros de diametro, mais ou menos circular, de côr clara, com exúvia de côr preta central ou subcentral.

Escudo ventral delicadissimo, aderente ao hospedeiro.

*Habitat* — Encontradas apenas três fêmeas adultas em Cabeluda (*Eugenia* sp.) em Santos, pelo autor, na Chácara Julio Conceição em 1939, e posteriormente abundante material em Agosto de 1942, pelo engenheiro agronomo EDUARDO RODRIGUES DE FIGUEIREDO JR., a quem dedico à espécie.

Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

## *Melanaspis Martinsi*, n. sp.

Figs. 43 a 47

Fêmea adulta de corpo mais ou menos arredondado, medindo em lâmina cerca de 1,75 milímetros. Derme, na maturidade, fina e transparente, com exceção da extremidade pigidial, onde apresenta, nas margens, tendência de esclerosação.

Pigidio com ângulo pouco menor que 90°, apresentando quatro pares de lóbulos. Lóbulos do par mediano arredondados, não zigóticos, apresentando um pequeno entalhe na face externa: lóbulos do segundo par um pouco mais largos que os medianos, apresentando dois entalhes na face externa; lóbulos do terceiro par mais largos que os do segundo, com três entalhes; quarto par de lóbulos apenas representados por um ponto esclerosado. Para além do quarto par de lóbulos a margem do pigidio apresenta-se finamente serreada, com três indentações espaçadas mais pronunciadas.

Nos espaços interlobulares notam-se placas de reduzidissimas dimensões. No pigidio notam-se sete pares de escleroses ou paráfises bem desenvolvidas,

sendo dois pares de paráfises longas e cinco de paráfises curtas, distribuidas da seguinte maneira: um par de paráfises curtas nos ângulos internos dos lóbulos medianos, um par de paráfises longas no ângulo externo dos lóbulos medianos; dois pares de paráfises curtas situadas, respectivamente, uma em cada ângulo interno e externo dos segundos lóbulos; um par de paráfises longas no espaço interlobular entre o segundo e terceiro lóbulo, e finalmente duas paráfises curtas nos ângulos internos e externos do terceiro par de lóbulos.

Dorso do pigidio apresentando as três áreas esclerosadas típicas do gênero. A primeira área se estende desde a margem externa dos segundos lóbulos para o interior do pigidio, alargando-se para a parte posterior. O segundo par de áreas esclerosadas, ou segundas áreas, nascem na base dos terceiros lóbulos, estendendo-se para trás, inclinadas lateralmente. O terceiro par de áreas esclerosadas estriadas origina-se na base dos quartos lóbulos, espandindo-se lateralmente. Ductos dorsais em número reduzido, porem longos, tendo os orifícios situados nos espaços interlobulares e nas áreas esclerosadas dorsais. Póros perivulvares presentes em quatro grupos. Anus situado no centro do pigidio, no meio da linha que liga a vulva à extremidade do pigidio.

Escudo feminino com cerca de 2,5 milímetros de diâmetro, mais ou menos circular, de côr marron, com exúvia de côr preta central ou subcentral. Escudo ventral delicadissimo, aderente ao hospedeiro.

*Habitat* — Colhido sobre roseira cultivada, em Campinas, em 12-3-42, pelo engenheiro agronomo ALCEU OSIAS MARTINS, a quem dedico a espécie.

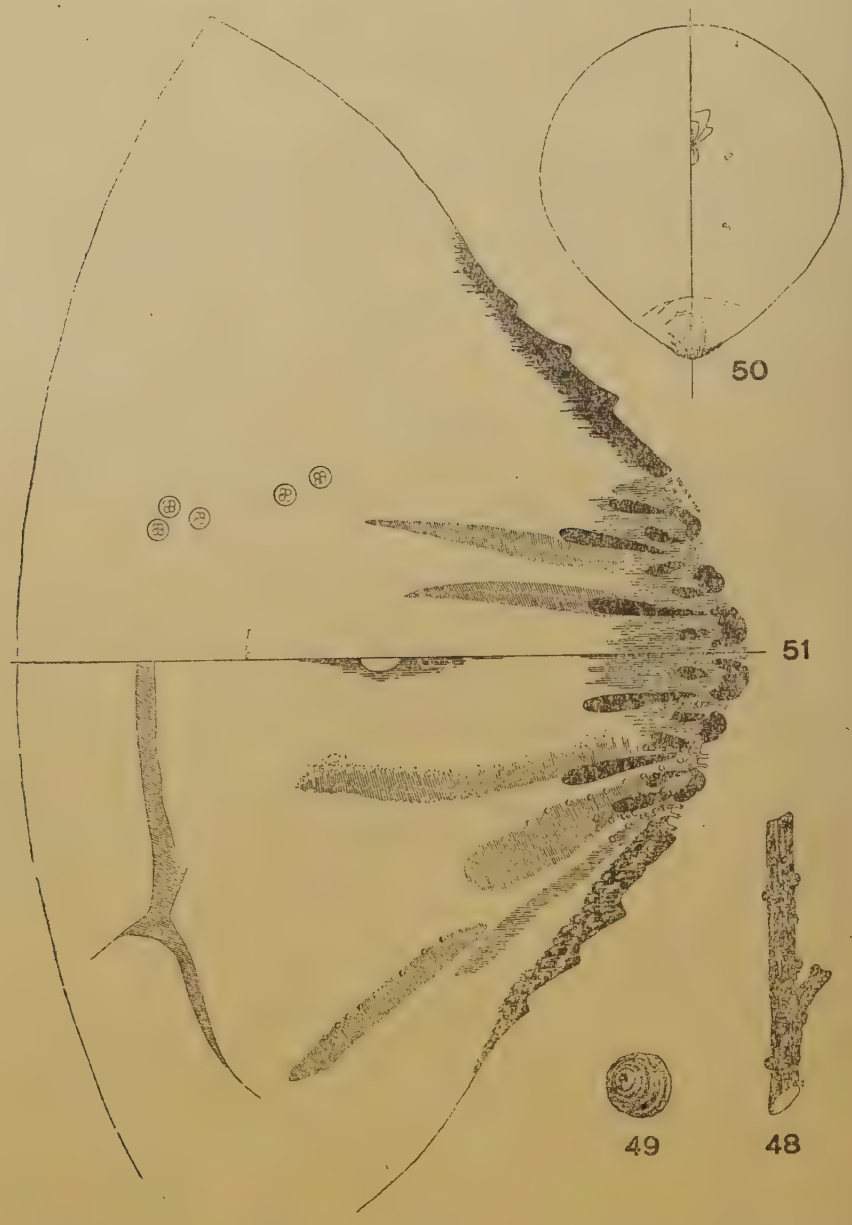
Material tipo — Incorporado às coleções entomológicas do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

## *Melanaspis santensis*, n. sp.

Figs. 48 a 51

Fêmea adulta de corpo mais ou menos arredondado, medindo em lâmina cerca de 2,5 milímetros em média. Derme, na maturidade, fina e transparente, com exceção do pigidio, onde as margens têm tendência a esclerosação. Pigidio arredondado, com ângulo superior a 90°, apresentando 4 pares de lóbulos. Lóbulos do par mediano arredondados, apresentando na face exterior um ligeiro entalhe; lóbulos do segundo par bem menores que os medianos, porem da mesma forma e tambem apresentando um entalhe na face externa; lóbulos do terceiro par um pouco mais largos que os do segundo, porem menores que os medianos, apresentando dois entalhes na face externa; lóbulos do quarto par apenas representados por uma esclerosação de forma triangular serreada, que se prolonga para a parte posterior. Para além do quarto par de lóbulos o pigidio apresenta-se mais ou menos esclerosado na margem, serreado, com três indentações mais ou menos equidistantes. Nos espaços interlobulares, que são estreitos entre os lóbulos medianos e primeiros e segundos lóbulos, e largos entre os segundos e terceiros e terceiros e quartos, ha placas de dimensões reduzidas, com as margens livres franjadas.

Notam-se ainda no pigidio sete pares de escleroses ou paráfises, sendo 2 pares grandes e 5 pequenos, dispostas da seguinte maneira de cada lado da linha




*Melanaspis santensis*, n. sp. (Figs. 48 a 51). Fig. 48 - Galho atacado, 1/3 do tamanho natural; Fig. 49 - Escudo feminino; Fig. 50 - Fêmea adulta, × 15; Fig. 51 - Pigidio da fêmea adulta, × 150.

mediana: uma paráfise curta sobre o lóbulo mediano, uma longa no ângulo externo do mesmo lóbulo, duas paráfises curtas respectivamente nos ângulos interno e externo do segundo lóbulo, uma paráfise longa no espaço interlobular entre o segundo e terceiro lóbulos, e duas curtas nos ângulos interno e externo dos terceiros lóbulos. Para além dos terceiros lóbulos não ha paráfises.

Dorsalmente o pigidio apresenta as três áreas esclerosadas típicas do gênero, onde se veem as aberturas dos ductos. Ductos dorsais em número reduzido, longos, com seus orifícios situados nos espaços interlobulares e nas segundas e

terceiras áreas esclerosadas. Póros perivulvares presentes, em número reduzido, em quatro grupos. Escudo feminino de côr parda escura, com exúvias de côr preta central ou subcentral.

*Habitat* — Colhido pelo autor em Santos, na Ilha Porchat, município de S. Vicente, em galhos de uma planta silvestre, em 24-5-1939.

Material tipo — Incorporado às coleções do Departamento de Defesa Sanitaria da Agricultura (Instituto Biologico), do Departamento de Zoologia, e na do autor.

Talvez seja a espécie de maiores dimensões no gênero.

## DESCRIPTIONS OF ELEVEN NEW SPECIES OF BRAZILIAN SCALE-INSECTS (HOMOPTERA - COCCOIDEA)


### *Abstract*

*In the present paper eleven species of Coccidae-Diaspidinae are described as new to science. All of the species are from Brazil. Ten species were collected in the State of S. Paulo, and one in Minas Gerais. Six species belong to the Diaspidini and five to the Aspidiotini.*


## BIBLIOGRAFIA


COSTA LIMA, A. M. — 1942 — *Os Insetos do Brasil.* 3.º volume. Publ. da Esc. Nac. de Agronomia, Rio de Janeiro.

FERRIS, G. F. — 1937-1940 — *Atlas of the Scale Insects of North America.* 3 volumes. Stanford University.

GREEN, E. E. — 1922 — *The Coccidae of Ceylon.* 5 vols., London, Dulau & Co.

HEMPEL, A. — 1900 — As Coccidas do Brasil. *Rev. Museu Paulista,* S. Paulo, 4: 365-537.

HEMPEL, A. — 1932 — Descrição de 22 espécies novas de coccideos. *Rev. Ent.,* Rio de Janeiro. 2: 310-339.

HEMPEL, A. — 1937 — Novas espécies de coccideos (Homoptera) do Brasil. *Arq. Inst. Biol.,* S. Paulo. 8: 5-36.

LEPAGE, H. S. — 1937 — O novo gênero diaspineo "Costalimaspis" com três espécies novas. *Arq. Inst. Biol.,* S. Paulo. 8: 239-248.

LEPAGE, H. S. — 1938 — Catalogo dos Coccideos do Brasil. *Rev. Museu Paulista,* S. Paulo. 23: 329-491.

LEPAGE, H. S. — 1939 — Duas novas espécies de coccideos do Brasil. *Arq. Inst. Biol.,* S. Paulo. 10: 313-318.

MC GILLIVRAY — 1921 — *The Coccidae.* 1 vol., Scarab Company, Ill., U. S. A.

SILVESTRI, F. — 1939 — Compendio di Entomologia applicata. Vol. I, parte 2. Portici, Italia.


———o———

Vol. 13 — Art. 18 Dezembro de 1942

# OBSERVAÇÕES DOS HÁBITOS DE "HELIOTHIS OBSOLETA (FABR.)" COMO PRAGA DAS ESPIGAS DE MILHO, E A ELIMINAÇÃO DOS ESTILOS-ESTIGMAS COMO PROCESSO DE COMBATE (LEP. NOCT.)

POR

A. Orlando

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 4 figuras no texto

## INTRODUÇÃO

Entre nós, a cultura de milho, quasi exclusivamente praticada para consumo próprio, apresenta-se ainda sob um aspecto quasi primitivo, destituida duma base racional, econômica.

Entretanto, em nossas condições, a adoção de práticas adiantadas e já consagradas, tais como seleção, hibridação e mecanização da cultura, aliadas à exportação e consumo racional, oferece grandiosas possibilidades para torna-la suficientemente remuneradora.

Ainda assim, depara-se-nos o aspecto fitossanitário, extraordinariamente importante, e comum a todos os paises produtores dessa utilissima gramínea. Nesse aspecto destaca-se o setor entomológico, que reune inúmeras fontes de limitação do desenvolvimento dessa cultura.

Alem das pragas prejudiciais, predominantemente quanto ao milho armazenado, e cujos nocivos efeitos são por demais conhecidos, aparecem tambem os insetos danificadores das plantas em desenvolvimento.

Ainda que bem numerosos os insectos pertencentes a esse último grupo, até agora, provavelmente devido à pouca atenção que têm merecido as pragas dessa cultura, pouco são os apontados como causadores de grandes prejuizos; destaca-se porem, como dos mais nocivos, o *Heliothis obsoleta* (FABR.), praga conhecida vulgarmente por lagarta da espiga do milho.

Outras pragas, segundo parece, apenas ocasionalmente surgem prejudicando o milho, sendo tambem de controle relativamente mais facil; algumas, que frequentemente aparecem, são, quanto à extensão dos estragos ocasionados, de importância secundária para essa cultura, segundo o que atualmente delas se conhece.

A lagarta da espiga do milho, entretanto, de importância econômica elevada, ataca a planta por diversos modos.

Quando ainda é nova, prejudica-a alimentando-se de suas folhas, e preferindo as enroladas, mais tenras, ocasiona as inúmeras séries de orifícios, que se observam nas folhas abertas. A planta ressente-se desse ataque, não constituindo porem essa a modalidade que maiores danos produz.

No decurso do desenvolvimento, o milho é tambem prejudicado pelo ataque da praga aos seus orgãos masculinos; sendo isso, porem, relativamente raro, não determina decrescimo sensivel da produção.

Torna-se entretanto sensivelmente prejudicial quando o ataque atinge a espiga, pois então ocasiona a destruição de grãos, facilita a ação dos insetos prejudiciais ao milho armazenado e a infestação por fungos.

Nos Estados Unidos existem regiões onde a infestação da espiga alcança 100%, com prejuizos comuns até de 50%.

Segundo informação pessoal do Snr. J. F. DO AMARAL, Chefe da Seção Fitossanitária do Instituto Biológico, a lagarta da espiga de milho, afeta entre nós, a produção, normal e diretamente, em cerca de 7%.

Nas condições das culturas utilizadas no presente ensaio, no decorrer do ano agrícola de 1941-42, e para a variedade empregada, os danos confirmaram essa informação, a-pesar-do grau de infestação em uma das épocas de plantio ter sido relativamente bem alto.

De fato as espigas vigorosas e protegidas, praticamente não apresentaram danos diretos; e embora as de desenvolvimento subnormal apresentassem prejuizos mais elevados, estes não ultrapassaram aquela porcentagem.

Podemos mesmo afirmar que nessas culturas os prejuizos oriundos da falta de formação de segundas espigas, pela ausência de fertilização de grande parte dos óvulos das espigas tardias, bem como da falha de grãos na extremidade livre das espigas, foram maiores que os ocasionados de modo direto pela infestação da praga.

Entretanto o potencial biótico da praga é grande, conforme nos revelam os entomologistas norte-americanos, que a consideram uma das maiores pragas do mundo, ocupando nas condições e variedades peculiares ao seu país, o primeiro lugar na escala quanto a prejuizos à cultura do milho.

Por isso inserimos a asserção acima com bastante reserva, sem procurar extende-la alem dos limites das pequenas culturas utilizadas, enquanto não dispuzermos de observações mais amplas e seguras.

Contudo a lagarta da espiga de milho merece cuidados especiais, entre nós, tanto pelos danos indiretos que ocasiona, como pela enorme diversidade de seus hospedeiros e extensa distribuição. Entretanto ainda não foi determinado um processo de controle inteiramente sa-

tisfatório, do ponto de vista econômico, a-pesar-dos acurados estudos que se vêm processando acerca dessa lagarta.

A aplicação das medidas atualmente aconselhadas (aração, adubação, tratos culturais adequados, resistencia do hospedeiro, plantio em épocas convenientes, inimigos naturais), pode promover resultados animadores, talvez com proporcional compensação. Entretanto, devido ao cuidado requerido por algumas delas, tais medidas não são praticadas nas condições atuais, por onerarem demasiadamente a cultura.

Os processos químicos de combate são os que mais satisfazem; mas, dado o seu elevado custo, são aconselhados com restrições.

Nessas condições, foi por nós tentado um novo processo, cuja eficiência procurámos determinar e cujos resultados preliminares são expostos no presente trabalho.

Ao Snr. H. F. G. Sauer, Chefe da Seção de Entomologia Agrícola do Instituto Biológico, deixamos aquí consignados os nossos melhores agradecimentos pelas sugestões e críticas apresentadas no decorrer da elaboração destas notas. Aos Snrs. Pedro R. de Almeida, Francisco Marciano Jr. e Srta. Mary F. Roso tambem agradecemos pela eficiente colaboração.

## BASES DO PROCESSO EM ESTUDO

O processo em estudo tem seus fundamentos nos próprios hábitos da praga. Conforme sabemos, os estilos-estigmas ("bonecas") constituem o local preferido pelas mariposas para a oviposição. Hospedam por esse motivo grande número de ovos, dos quais derivam as lagartas, que se alimentam e abrigam nesses orgãos femininos ou na porção situada entre as extremidades da espiga e da palha.

Supuzemos então que a extirpação da "boneca" por um corte na extremidade da espiga poderia originar, pelo extermínio de todas aquelas formas do inseto, uma sensível baixa na infestação geral de uma cultura de milho.

Entretanto, um corte precoce em tais condições, apesar do reaparecimento dos estilos-estigmas, poderia ser prejudicial à fertilização dos óvulos, permitindo, por outro lado, uma reinfestação. Um corte tardio tambem poderia, pelo crescimento da espiga propriamente dita, e pela descida da lagarta sobrevivente ao canibalismo, não ser eficiente, por ser díficil alcançar o inseto sem prejudicar a espiga. Daí a necessidade de experimentar o corte em diversas épocas, para que se pudesse determinar um termo médio que, não prejudicando a espiga nem permitindo uma reinfestação, tambem não facultasse, por demasiado tardio, o acesso da lagarta á espiga.

## CONDIÇÕES DAS CULTURAS UTILIZADAS NOS ENSAIOS

Os ensaios foram realizados em duas épocas distintas: a primeira com milho plantado em meados de Setembro; a segunda, com milho plantado em fins de Dezembro. Essa dualidade serviu apenas para verificar as variações de infestação relativamente às épocas, porquanto os primeiros ensaios não permitiram uma conclusão em seu objetivo principal.

De fato, embora apresentando uma infestação relativamente alta nas partes vegetativas, durante o crescimento da planta, no plantio de Setembro, a infestação das espigas não foi ponderável, impedindo que se pudessem tirar conclusões da experiência feita nessa época.

O plantio de Dezembro, entretanto, praticamente não teve infestação no período de desenvolvimento das partes vegetativas, apresentando contudo uma porcentagem elevada de espigas infestadas. Por essa razão, ocupar-nos-emos somente das condições e resultados obtidos nesse último plantio.

O terreno utilizado foi o de uma vargem de média fertilidade, de área de 2.500 ms.$^2$, aproximadamente. O número total de plantas empregadas foi de 3.592.

A variedade "Cateto" foi a escolhida e a cultura ficou distribuida por 47 linhas, de número variável de plantas, com as distâncias de 1 metro entre as linhas e 50 cms. entre as plantas. (Adotou-se esse espaçamento para maior facilidade de observação).

## MÉTODO DE ESTUDO

A emissão das "bonecas" das diferentes plantas teve início em 21/2/42, processando-se durante o período de 21 de Fevereiro a 22 de Março, de modo não uniforme, como mostram a tabela 1 e figura 1.

A princípio houve um número relativamente pequeno de emissões que, crescendo, atingiu rapidamente a um máximo, para depois cair gradativamente. Alem das replantas, que aliás foram muito poucas, a temperatura e umidade da época, essa falta de uniformidade deve ter sido influênciada pela heterogeneidade própria do solo e por qualidades inerentes à própria planta.

Dada a desuniformidade da emissão dos estilos-estigmas, não se pôde dividir a cultura em lotes com idêntico número de indivíduos. Foi necessário, para prevenir erros, observar-se diariamente toda a cultura e reunir em grupos as plantas que embonecaram dentro de um prazo de dois dias. Tais agrupamentos, constituidos de número variavel de indivíduos, que convencionamos chamarem-se *"épocas"*, foram tratados de modo semelhante.

TABELA 1

Emissão dos estilos-estigmas do milho plantado em 16/12/1941 — Campinas

| Época | Data da emissão Ano — 1942 | Número de plantas florescidas | Porcentagem de plantas florescidas |
|---|---|---|---|
| 1.ª | 25 - 26/2 | 29 | 0,81 |
| 2.ª | 27 - 28/2 | 45 | 1,25 |
| 3.ª | 1 - 2/3 | 242 | 6,73 |
| 4.ª | 3 - 4/3 | 432 | 12,05 |
| 5.ª | 5 - 6/3 | 488 | 13,58 |
| 6.ª | 7 - 8/3 | 455 | 12,67 |
| 7.ª | 9 - 10/3 | 430 | 11,97 |
| 8.ª | 11 - 12/3 | 422 | 11,75 |
| 9.ª | 13 - 14/3 | 372 | 10,36 |
| 10.ª | 15 - 16/3 | 312 | 8,68 |
| 11.ª | 17 - 18/3 | 131 | 3,65 |
| 12.ª | 19 - 20/3 | 118 | 3,28 |
| 13.ª | 21 - 22/3 | 53 | 1,47 |
| 14.ª | 23 - 24/3 | 39 | 1,08 |
| 15.ª | 25 - 26/3 | 24 | 0,67 |
| | Total . . . . | 3.592 | |

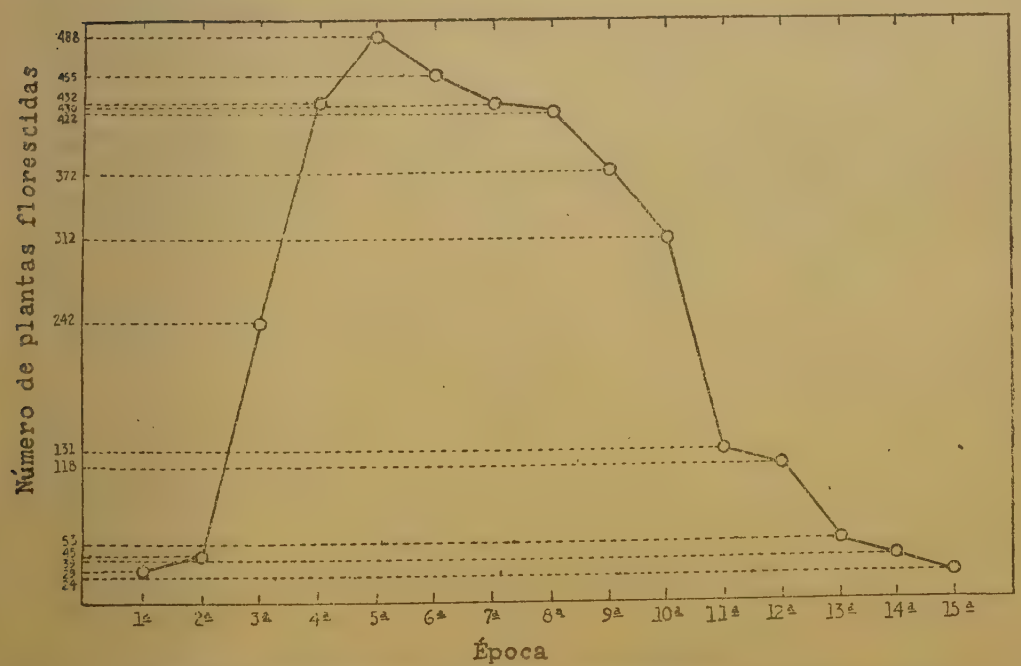



Fig. 1 — Gráfico demonstrativo da curva das emissões dos estilos-estigmas do milho plantado em 16-12-1941.

Os indivíduos de cada época foram divididos em cinco séries equivalentes, e submetidos aos quatro tratamentos escolhidos para esses primeiros ensáios: corte com 2-3, 5-6, 8-9, e 11-12 dias, e testemunhas (plantas não sujeitas ao corte).

Esse trabalho foi repetido em oito épocas, com um total de 2.413 espigas tratadas e 678 testemunhas, tendo-se desprezado algumas épocas por conterem número diminuto de plantas.

Quanto á extensão do corte, convencionámos um comprimento de 4 cms. ou, quando não fosse possível, o quanto a espiga o permitisse, isto é, o bastante para não lhe prejudicar a extremidade.

Para simplificar o registro das emissões dos estilos-estigmas e a distribuição das plantas para os diferentes tratamentos, e para facilitar as anotações de quaisquer outras observações, cada linha da cultura foi dividida em séries de 30 plantas.

O corte foi então feito nos dias determinados, e os cabelos, recolhidos em pequenas caixas de Petri devidamente numeradas, e levados ao laboratório para exame.

As espigas permaneceram na cultura até 20/5/42, quando os grãos, já em estado vitreo, permitiram as primeiras observações quanto aos efeitos dos diferentes tratamentos.

## I — EXAME DOS ESTILOS-ESTIGMAS

### INTERPRETAÇÃO

O exame dos cabelos cortados teve por fim principal o conhecimento de alguns hábitos da praga, na natureza.

Nas tabelas 2 e 3, reunimos todos os dados colhidos nos exames relativos à 3.ª e 4.ª épocas, respectivamente, os quais foram considerados separadamente por terem sido os exames realizados logo após a coleta dos cabelos.

Os cabelos referentes às demais épocas, embora cortados em dia conveniente, somente alguns dias após a colheita puderam ser submetidos aos exames previstos. Mesmo assim, achámos oportuno considera-los, crendo que a interpretação do conjunto nos facultaria dados de valor real.

Esses dados acham-se reunidos na tabela 4, correspondendo aos exames procedidos em todos os cabelos, cortados com 2-3, 5-6, 8-9 e 11-12 dias. A tabela 5 mostra os resultados gerais desse conjunto.

Com o fim de melhor evidenciar os resultados aduzimos ainda neste capítulo os gráficos II, III, IV (fig. 2), representando os valores das médias de ovos e lagartas, correspondentes aos cabelos das 3.ª e 4.ª épocas, e conjunto.

## TABELA 2

Exame dos estilos-estigmas da 3.ª época do milho plantado em 16/12/1941 — Campinas

| Época | Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Número de bonecas examinadas | Fases evolutivas do *H. obsoleta* encontradas: | | | Fases evolutivas do *H. obsoleta* em 100 bonecas | | | Infestação média por boneca | | | Relação entre as fases evolutivas de *H. obsoleta* encontradas nas bonecas, em porcentagem | | Número de bonecas isentas de infestação | Porcentagem geral de bonecas infestadas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Ovos | Lagartas | | |
| 3.ª 25 - 26/ | 2 - 3 | 52 | 526 | 1 | 527 | 1.011,54 | 1,92 | 1.013,46 | 10,11 | 0,02 | 10,13 | 99,81 | 0,19 | 1 | 98,08 |
| | 5 - 6 | 46 | 290 | 33 | 323 | 630,43 | 71,74 | 702,17 | 6,30 | 0,72 | 7,02 | 89,78 | 10,22 | 1 | 97,83 |
| | 8 - 9 | 42 | 74 | 172 | 246 | 176,19 | 409,52 | 585,71 | 1,76 | 4,09 | 5,86 | 30,08 | 69,92 | 2 | 95,24 |
| | 11 - 12 | 45 | 4 | 95 | 99 | 8,88 | 211,11 | 219,99 | 0,09 | 2,11 | 2,20 | 4,04 | 95,96 | 3 | 96,50 |

## TABELA 3

Exame dos estilos-estigmas da 4.ª época do milho plantado em 16/12/1941 — Campinas

| Época | Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Número de bonecas examinadas | Fases evolutivas do *H. obsoleta* encontradas: | | | Fases evolutivas do *H. obsoleta* em 100 bonecas | | | Infestação média por boneca | | | Relação entre as fases evolutivas de *H. obsoleta* encontradas nas bonecas, em porcentagem | | Número de bonecas isentas de infestação | Porcentagem geral de bonecas infestadas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Ovos | Lagartas | | |
| 4.ª 27 - 28/2 | 2 - 3 | 84 | 477 | 8 | 485 | 567,86 | 9.52 | 577,38 | 5,68 | 0,09 | 5,77 | 98,35 | 1,65 | 6 | 92,86 |
| | 5 - 6 | 78 | 340 | 146 | 486 | 435,90 | 184,61 | 620,51 | 4,36 | 1,85 | 6,23 | 70,25 | 29,75 | 0 | 100,00 |
| | 8 - 9 | 83 | 77 | 186 | 263 | 92,77 | 224,10 | 316,87 | 0,93 | 2,24 | 3,17 | 29.28 | 70,72 | 4 | 95,18 |
| | 11 - 12 | 84 | 39 | 142 | 181 | 46,42 | 169,05 | 215,47 | 0,46 | 1,69 | 2,15 | 21,54 | 78,46 | 1 | 98,81 |

Pelo exame desses dados, verificámos que a oviposição varia constantemente, concordando sempre dentro de uma mesma época, o que julgámos ter relação principalmente com os diferentes estados por que passam os cabelos durante o seu ciclo. Assim aqueles dados mostram que a oviposição é sempre intensa nos cabelos cortados com 2-3 dias de existência, sendo menor para os cortados com 5-6 dias e muito menor ainda para os de 8-9 e 11-12 dias, em que se torna praticamente nula.

Essa sequência faz-nos deduzir que os cabelos frescos ou os mais próximos a esse estado exercem maior atração para a postura. De fato os cabelos cortados com 2-3 dias apresentam-se sempre completamente verdes, ao passo que, com 5-6 dias, apresentam em média uma quarta parte ou mesmo a metade livre, seca; os de 8-9 dias, com a metade ou 3/4 partes, e os de 11-12 dias, com 3/4 partes ou, o que é mais comum, totalmente secos. As médias de lagartas variam sempre de maneira inversa, notando-se até 8-9 dias, uma ascenção bem distinta. Daí por diante, verifica-se uma tendência para diminuição, o que é facilmente explicavel pela penetração das lagartas na espiga, canibalismo e ação de outros agentes naturais limitadores.

Devido às limitações naturais, o número máximo de lagartas, dentro de uma mesma época (alcançado sempre ao 8.º-9.º dias), é constantemente menor do que o número máximo de ovos.

Os gráficos II a IV (fig. 2) demonstram melhor esses fatos, indicando ainda que as curvas relativas às médias de ovos e lagartas sempre têm início em pontos opostos, tendendo para um ponto comum situado entre o 5.º-6.º e 8.º-9.º dias, período em que se equipara o número de ovos ao de lagartas. Do 8.º ao 12.º dias essas curvas tendem a uma queda em comum, até o ponto de valor nulo.

Se as curvas relativas às porcentagens de ovos e lagartas fossem traçadas, teriam até o ponto comum um percurso semelhante, tendendo em seguida a uma grande separação, tanto maior quanto mais seco os cabelos.

Examinando-se as médias do total de indivíduos, verifica-se que elas decrescem segundo o estado dos cabelos, tendendo entretanto a uma equivalência nos de 2-3 e 5-6 dias. Esse fato é explicavel pela maior exposição dos cabelos de 5-6 dias, quando há acrescimo de novas oviposições e aumento de lagartas oriundas de eclosão.

Nos cabelos em outros estados, essa média é menor, devido à diminuição acentuada de novas posturas, maior penetração das lagartas e ações limitadoras várias.

O número de ovos encontrados nos cabelos variou grandemente, verificando-se em cabelo de 2-3 dias a presença até de 50 ovos, e comu-

TABELA 4

Dados concernentes ao exame dos estilos-estigmas cortados após 2-3, 5-6, 8-9 e 11-12 dias do aparecimento — Campinas, 1942

| Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Época | Número de bonecas examinadas | Fases evolutivas de *H. obsoleta* encontradas | | | Fases evolutivas de *H. obsoleta* em 100 bonecas | | | Número de bonecas isentas de infestação | Porcentagem geral de bonecas infestadas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | | |
| 2 - 3 dias | 3.ª | 52 | 526 | 1 | 527 | 1.011,54 | 1,92 | 1.013,46 | 1 | 98,08 |
| | 4.ª | 84 | 477 | 8 | 485 | 567,86 | 9,52 | 577,38 | 6 | 92,86 |
| | 5.ª | 95 | 546 | 12 | 558 | 574,74 | 12,63 | 587,37 | 6 | 93,68 |
| | 6.ª | 80 | 149 | 55 | 204 | 186,25 | 68,75 | 255,00 | 14 | 82,50 |
| | 7.ª | 83 | 100 | 85 | 185 | 120,48 | 102,41 | 222,89 | 18 | 78,31 |
| | 8.ª | 82 | 471 | 88 | 559 | 574,39 | 107,32 | 681,71 | 0 | 100,00 |
| | 9.ª | 74 | 157 | 122 | 279 | 212,16 | 164,86 | 377,02 | 6 | 91,89 |
| | 10.ª | 61 | 19 | 94 | 113 | 31,15 | 154,10 | 185,25 | 11 | 81,97 |
| Total . . . | | 611 | 2.445 | 465 | 2.910 | 3.278,57 | 621,51 | 3.900,08 | 62 | 89,85 |
| 5 - 6 dias | 3.ª | 46 | 290 | 33 | 323 | 630,43 | 71,74 | 702,17 | 1 | 97,83 |
| | 4.ª | 78 | 340 | 146 | 486 | 435,90 | 187,18 | 623,08 | 0 | 100,00 |
| | 5.ª | 96 | 191 | 127 | 318 | 198,96 | 132,29 | 331,25 | 9 | 90,62 |
| | 6.ª | 80 | 18 | 141 | 159 | 22,50 | 176,25 | 198,75 | 11 | 86,25 |
| | 7.ª | 88 | 120 | 132 | 252 | 136,36 | 150,00 | 286,36 | 5 | 94,32 |
| | 8.ª | 84 | 29 | 214 | 243 | 34,52 | 254,76 | 289,28 | 6 | 92,86 |
| | 9.ª | 73 | 74 | 202 | 276 | 101,37 | 276,71 | 378,08 | 3 | 95,89 |
| | 10.ª | 63 | 180 | 101 | 281 | 285,71 | 160,32 | 446,03 | 2 | 96,82 |
| Total . . . | | 608 | 1.242 | 1.096 | 2.338 | 1.845,75 | 1.409,25 | 3.255,00 | 37 | 93,92 |
| 8 - 9 dias | 3.ª | 42 | 74 | 172 | 246 | 176,19 | 409,52 | 585,71 | 2 | 95,24 |
| | 4.ª | 83 | 77 | 186 | 263 | 92,77 | 224,10 | 316,87 | 4 | 95,18 |
| | 5.ª | 95 | 400 | 244 | 644 | 421,05 | 256,84 | 677,89 | 1 | 98,95 |
| | 6.ª | 82 | 37 | 196 | 233 | 45,12 | 239,02 | 284,14 | 5 | 93,90 |
| | 7.ª | 74 | 9 | 138 | 147 | 12,16 | 186,48 | 198,65 | 3 | 95,94 |
| | 8.ª | 83 | 78 | 209 | 287 | 93,97 | 251,81 | 345,78 | 3 | 96,38 |
| | 9.ª | 74 | 3 | 111 | 114 | 4,05 | 150,00 | 154,05 | 9 | 87,84 |
| | 10.ª | 58 | 186 | 97 | 283 | 320,69 | 167,24 | 487,93 | 3 | 94,82 |
| Total . . . | | 591 | 864 | 1.353 | 2.217 | 1.166,00 | 1.885,02 | 3.051,02 | 30 | 94,92 |
| 11 - 12 dias | 3.ª | 45 | 4 | 95 | 99 | 8,88 | 211.11 | 219,99 | 3 | 93,33 |
| | 4.ª | 84 | 39 | 142 | 181 | 46,42 | 169,05 | 215,47 | 1 | 98,81 |
| | 5.ª | 96 | 8 | 163 | 171 | 8,33 | 169,79 | 178,12 | 7 | 92,71 |
| | 6.ª | 80 | 40 | 183 | 223 | 50,00 | 228,75 | 278,75 | 9 | 88,75 |
| | 7.ª | 84 | 180 | 284 | 464 | 214,28 | 338,09 | 552,37 | 2 | 97,62 |
| | 8.ª | 80 | 197 | 151 | 348 | 246,25 | 188.75 | 435,00 | 1 | 98,75 |
| | 9.ª | 73 | 31 | 97 | 128 | 42,46 | 132,88 | 175,34 | 8 | 89,04 |
| | 10.ª | 60 | 100 | 81 | 181 | 166,66 | 135,00 | 301,66 | 2 | 96,66 |
| Total . . . | | 602 | 599 | 1.196 | 1.795 | 783,28 | 1.573,42 | 2.356,70 | 33 | 94,52 |

mente até 20-25 ovos, principalmente nos primeiros grupos de emissões, por se processar a distribuição de ovos para um menor número de cabelos.

O número de lagartas foi tambem variavel e relativamente mais baixo, sendo 25 o máximo, e 5 e 10 a quantidade frequentemente encontrada em cabelos em estádio médio.

TABELA 5

Resultados gerais do exame dos estilos-estigmas do milho plantado em 16/12/1941 — Conjunto

| Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Fases evolutivas de *H. obsoleta* em 100 bonecas | | | Infestação média por boneca | | | Relação entre as fases evolutivas de *H. obsoleta* encontradas nas bonecas (Porcentagem) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Número de ovos | Número de lagartas | Total | Ovos | Lagartas |
| 2 - 3 | 3.278,57 | 621,51 | 3.900,08 | 4,10 | 0,78 | 4,88 | 84,06 | 15,94 |
| 5 - 6 | 1.845,75 | 1.409,25 | 3.256,00 | 2,31 | 1,76 | 4,07 | 56,69 | 43,31 |
| 8 - 9 | 1.166,00 | 1.885,02 | 3.051,02 | 1,46 | 2,36 | 3,82 | 38,22 | 61,78 |
| 11 - 12 | 783,28 | 1.573,42 | 2.356,70 | 0,98 | 1,97 | 2,95 | 33.24 | 66,76 |

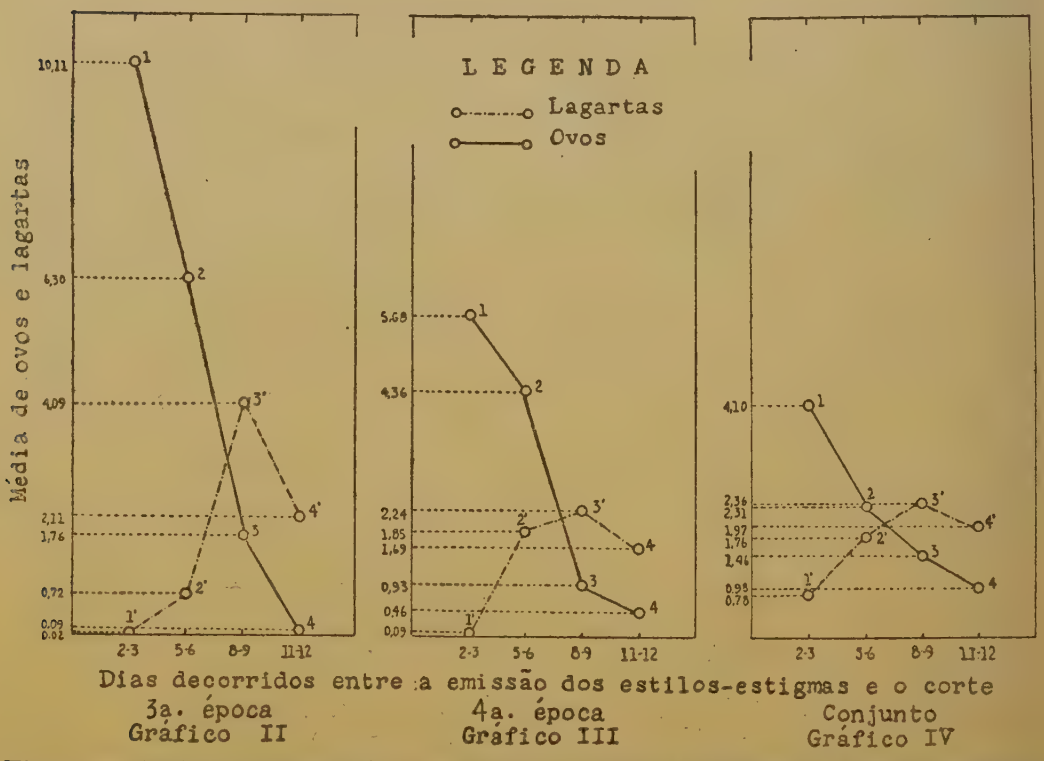



Fig. 2 — Gráfico demonstrativo das curvas relativas ao número de ovos e lagartas, encontradas nos estilos-estigmas examinados após o corte, derivados das tabelas 2, 3 e 5 respectivamente.

A porcentagem geral de bonecas infestadas foi, conforme os dados, sempre bem alta e mais uniforme, indicando que mesmo uma breve exposição já é suficiente para que os cabelos se apresentem infestados, o que confirma a grande atividade das mariposas. As condições de temperatura e umidade durante essas observações encontram-se representadas na fig. 3.

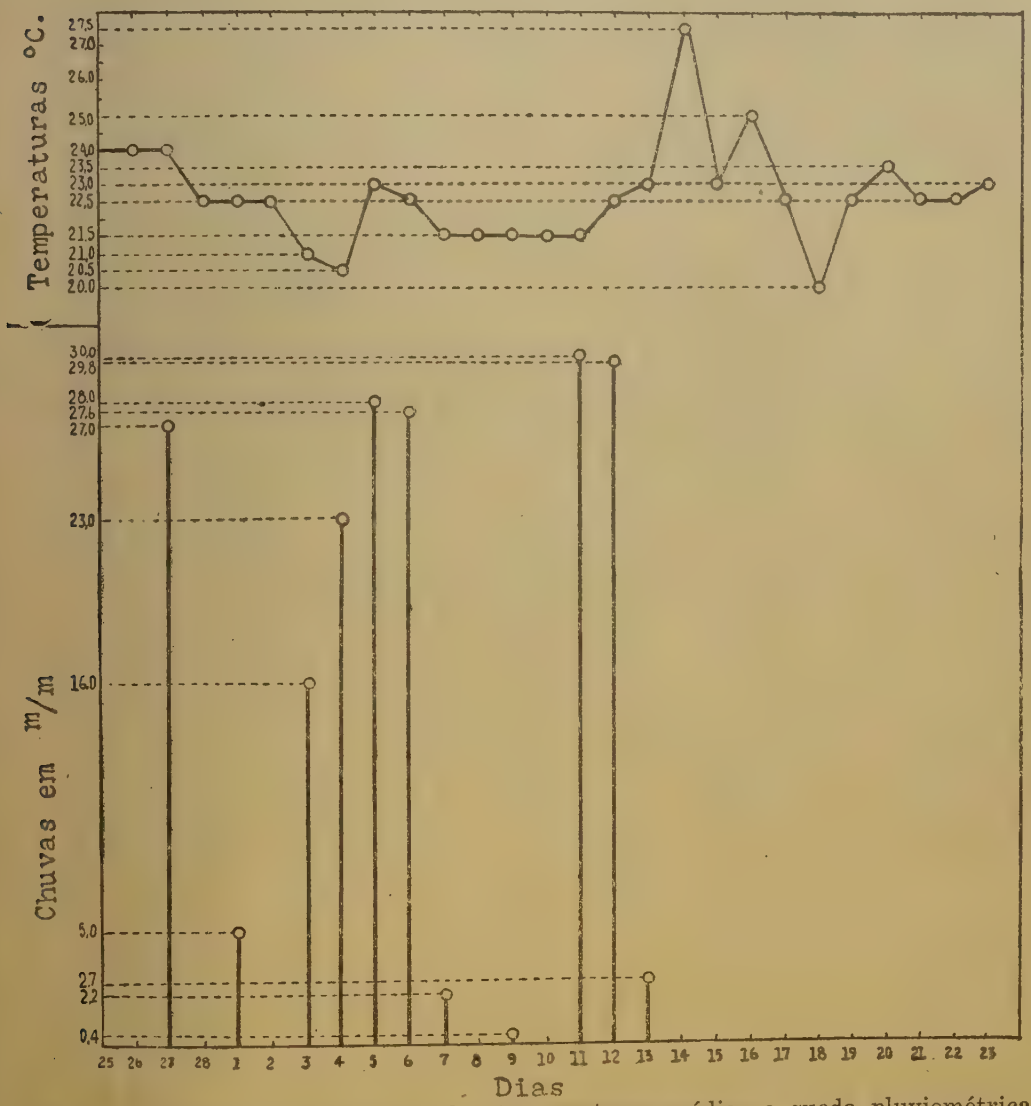



Fig. 3 — Curvas representativas das temperaturas médias e queda pluviométrica verificadas entre 25 de Fevereiro e 23 de Março de 1942

Alem de ovos e lagartas de *Heliothis obsoleta* (FABR.) foram encontrados nos cabelos, com muita frequência, ovos de Diptero cujo ciclo se realiza em cabelos decompostos, após o ataque da lagarta da espiga de milho.

Tambem foram comumente observados ovos de dois microlepidopteros indeterminados, cujas lagartas vivem nos cabelos, aí permanecendo frequentemente em seu estádio ninfal. Lagartas de *Laphygma frugiperda*, SMITH & ABBOT, tambem foram encontradas, alimentando-se nesses orgãos femininos, e, embora menos frequentemente, lagartas de uma espécie de *Diatreia*, e adultos de *Diabrotica* sp.

## II — RESULTADOS OBTIDOS COM O CORTE DA EXTREMIDADE DA ESPIGA

A apreciação das espigas foi feita apenas relativamente à infestação, devido ao baixo grau de prejuizo manifestado, o que tornou inutil qualquer ponderação nesse sentido.

O exame foi realizado no próprio campo, levando-se em consideração a infestação pelo *Heliothis obsoleta* (FABR.) e complementarmente, as infestações extranhas por carunchos e infestação por fungos.

a) Infestação extranha — Os fungos raramente se tornaram perceptiveis; foram entretanto comumente encontrados, e em porcentagem elevada, insetos prejudiciais, predominantemente ao milho armazenado: *Sitophilus oryzae* (L.), *S. granaria* (L.).

TABELA 6

Influência exercida pelo corte dos estilos-estigmas e ataque pelo *H. obsoleta* sobre a infestação por insetos nocivos ao milho armazenado — Campinas — 1942

| Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Porcentagem de espigas infestadas por gorgulhos | |
|---|---|---|
| | Espigas atacadas pela lagarta | Espigas não atacadas pela lagarta |
| 2 - 3 | 68,86 | 41,75 |
| 5 - 6 | 63,61 | 53,33 |
| 8 - 9 | 68,91 | 52,84 |
| 11 - 12 | 65,92 | 50,62 |
| Média | 66,82 | 49,63 |
| Testemunha | 70,27 | 28,56 |

No decorrer das observações procurámos obter dados informativos quanto à influência do ataque pela lagarta da espiga de milho e do corte, sobre a infestação por aqueles insetos. Os resultados obtidos acham-se representados na tabela 6, e constituem uma média geral dos dados conseguidos por ocasião do exame de todas as espigas consideradas. Esses resultados indicam:

TABELA 7

Resultados obtidos no exame das espigas e relativos ao ataque pelo *Heliothis obsoleta* (FABR.) em 8 épocas — Campinas, 1942

| Época | Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte. | Número total de espigas | Número de espigas atacadas | Porcentagem de infestação |
|---|---|---|---|---|
| 3.ª | 2 - 3 | 52 | 23 | 44,23 |
| | 5 - 6 | 46 | 27 | 58,69 |
| | 8 - 9 | 42 | 17 | 40,48 |
| | 11 - 12 | 45 | 14 | 31,11 |
| | Testemunha | 50 | 26 | 52,00 |
| 4.ª | 2 - 3 | 84 | 51 | 60,71 |
| | 5 - 6 | 78 | 43 | 55,13 |
| | 8 - 9 | 83 | 36 | 43,37 |
| | 11 - 12 | 84 | 34 | 40,48 |
| | Testemunha | 92 | 49 | 53,26 |
| 5.ª | 2 - 3 | 95 | 56 | 58,95 |
| | 5 - 6 | 96 | 54 | 56,25 |
| | 8 - 9 | 95 | 43 | 45,26 |
| | 11 - 12 | 96 | 36 | 37,50 |
| | Testemunha | 94 | 51 | 54,25 |
| 6.ª | 2 - 3 | 80 | 52 | 65,00 |
| | 5 - 6 | 80 | 49 | 61,25 |
| | 8 - 9 | 82 | 44 | 53,66 |
| | 11 - 12 | 80 | 41 | 51,25 |
| | Testemunha | 130 | 74 | 56,92 |
| 7.ª | 2 - 3 | 83 | 59 | 71,08 |
| | 5 - 6 | 88 | 53 | 60,23 |
| | 8 - 9 | 74 | 45 | 60,81 |
| | 11 - 12 | 84 | 45 | 53,57 |
| | Testemunha | 92 | 64 | 69,56 |
| 8.ª | 2 - 3 | 82 | 58 | 70,73 |
| | 5 - 6 | 84 | 56 | 66,66 |
| | 8 - 9 | 83 | 46 | 55,42 |
| | 11 - 12 | 80 | 37 | 46,25 |
| | Testemunha | 83 | 62 | 74,70 |
| 9.ª | 2 - 3 | 74 | 53 | 71,62 |
| | 5 - 6 | 73 | 44 | 60,27 |
| | 8 - 9 | 74 | 45 | 60,81 |
| | 11 - 12 | 73 | 37 | 50,68 |
| | Testemunha | 72 | 55 | 76,38 |
| 10.ª | 2 - 3 | 61 | 48 | 78,69 |
| | 5 - 6 | 63 | 47 | 74,60 |
| | 8 - 9 | 58 | 39 | 67,24 |
| | 11 - 12 | 60 | 28 | 46,66 |
| | Testemunha | 66 | 50 | 75,75 |

— que a porcentagem de infestação por aqueles insetos é sempre maior nas espigas atacadas pela lagarta, a ponto de se verificar uma diferença de 41,71%, entre essas espigas e as testemunhas, sãs;

— que entre as espigas atacadas pelo *Heliothis*, a porcentagem de infestação por tais insetos é mais ou menos a mesma, quer nas espigas tratadas, quer nas testemunhas;

— que as porcentagens de infestação por gorgulhos nas espigas tratadas e não atacadas pelo *Heliothis*, são sempre maiores que nas testemunhas tambem isentas da praga, correspondendo em média a um aumento de cerca de 21%, o que demonstra ser a ação do corte um tanto prejudicial sob esse aspecto.

TABELA 8

Eficiências obtidas pelos diferentes tratamentos nas oito épocas consideradas — Campinas, 1942

| Época | Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2 - 3 | 5 - 6 | 8 - 9 | 11 - 12 |
| 3.ª | 7,77 | — 6,69 | 11,52 | 20,89 |
| 4.ª | — 7,45 | — 1,87 | 9,89 | 12,76 |
| 5.ª | — 4,70 | — 2,00 | 8,99 | 16,75 |
| 6.ª | — 8,08 | — 4,33 | 3,26 | 5,67 |
| 7.ª | —1,52 | 9,33 | 8,75 | 15,99 |
| 8.ª | 3,97 | 8,04 | 19,28 | 28,45 |
| 9.ª | 4,76 | 16,11 | 15,57 | 25,70 |
| 10.ª | — 2,94 | 1,15 | 8,51 | 29,09 |

TABELA 9

Redução média de ataque às espigas pelo *H. obsoleta* devido ao corte dos estilos-estigmas — Campinas, 1942

| Dias decorridos entre a emissão dos estilos-estigmas e o corte | Eficiência média relativa de cada tratamento, em porcentagem |
|---|---|
| 2 - 3 | 0,59 |
| 5 - 6 | 4,94 |
| 8 - 9 | 10,72 |
| 11 - 12 | 19,41 |

b) Fertilização — No decorrer das observações foi verificado que em nenhuma de suas modalidades constituiu o corte obstáculo à fertilização das espigas. Todas as espigas das épocas consideradas apresentavam-se igualmente granadas. A abundância de pólen, existente numa cultura de milho em pleno florescimento, garante uma rápida fertilização, mesmo após o corte dos estilos-estigmas, pois esses continuam crescendo, e acabam emergindo de novo da espiga.

c) Infestação pelo *Heliothis obsoleta* (FABR.) — O ataque pela lagarta da espiga de milho, objetivo principal de nossa apreciação, facilmente era constatado, mesmo antes de aberta a espiga, pois geralmente as espigas atacadas apresentavam um ou raramente dois ou mais orifícios, de orla escurecida, próximos à extremidade livre da espiga, praticados por lagarta em procura do solo para sua encrisalidação.

Os dados obtidos na apreciação das espigas relativamente ao ataque de *Heliothis* encontram-se condensados nas tabelas 7, 8 e 9.

A tabela 7 evidencia a porcentagem de espigas atacadas pelo *Heliothis obsoleta*, quer se considerem os tratamentos dentro de uma mesma época (corte dos estilos-estigmas), quer se observem as diferentes épocas consideradas, nas quais os tratamentos foram repetidos.

A tabela 8 indica as diferentes eficiências obtidas por um tratamento, relativamente a todas as épocas de repetição. Esses valores foram obtidos por diferenças entre as porcentagens de infestação apresentadas pela testemunha e espigas tratadas pertencentes a uma mesma época.

A tabela 9 contem as eficiências obtidas pela média das eficiências relativas a cada tratamento em todas as épocas em que foram repetidos.

A tabela 7 mostra que a infestação das espigas testemunhas variou entre as diferentes épocas em que os tratamentos foram repetidos, o que equivale a dizer que foi desigual para os diferentes grupos de emissões de cabelo, verificadas na cultura. Essa infestação demonstrou ser crescente e consideravelmente maior para as quatro últimas épocas, como traduz o gráfico da figura 4.

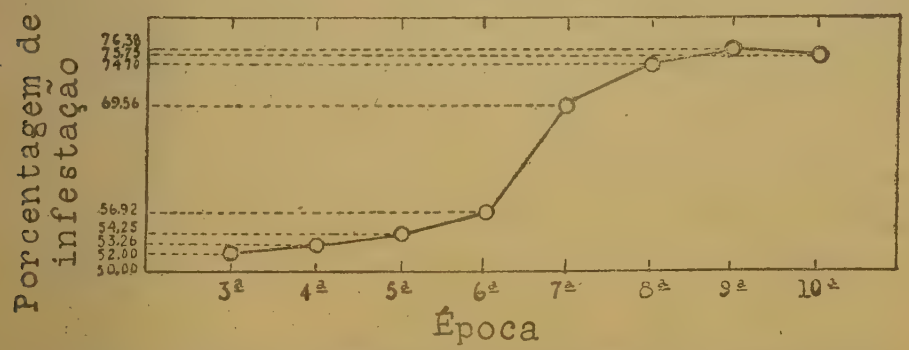



Fig. 4 — Curva representativa da porcentagem de infestação das espigas testemunhas das 8 épocas consideradas

Conforme se vê na tabela 8, os tratamentos precoces — cortes ao 2.º-3.º, 5.º-6.º dias, nem sempre foram eficazes, permitindo algumas vezes infestações maiores que as da testemunha.

Os cortes mais tardios, ao contrário, sempre apresentaram eficácia ponderavel.

O corte ao 11.º-12.º dias foi o que melhores resultados apresentou, produzindo eficiências variaveis de 5,67% a 29,09%, com média de 19,41%.

O resultado muito pouco satisfatório, apresentado pelos cortes precoces, deve-se, ao que supomos, à reaparição acentuada dos estilos-estigmas.

Ainda que no momento da extirpação precoce dos cabelos, pela localização bem externa das lagartinhas e ovos, se obtenha um resultado altamente significativo, este é anulado pela reinfestação. A-pesar-de prevista essa circunstância, foram incluidos nos ensaios os tratamentos precoces, afim de melhor se determinar a sua influência.

Em conclusão, pode-se dizer que a infestação de *Heliothis obsoleta* nas espigas pode ser controlada pela eliminação dos estilos-estigmas, conseguindo-se resultados mais eficazes a partir do 11.º-12.º dias da sua emissão.. Provavelmente resultados mais satisfatórios serão obtidos com cortes mais tardios, porem esse aspecto, será objeto de cogitações futuras.

## OBSERVATIONS ON THE BEHAVIOUR OF "HELIOTHIS OBSOLETA (FABR.)" (LEP. NOCTUIDAE), AS A PEST OF THE CORN EARS, AND THE ELIMINATION OF THE SILKS AS A MEANS OF ITS CONTROL


### *Abstract*

*This paper reports observations on the biology of Heliothis obsoleta and preliminary experiments on its control by means, of cutting the part of the silk outside of the cob. Cutting was performed on the 2nd-3rd, 5-6th, 8-9th and 11-12th days after shooting of the silk. In none of those experiments fertility was impaired. Early cutting was not always efficient, due chiefly to further development of the styles followed by reinfestation. Late cutting however always produced a significant decrease in infestation. Best results were obtained with extirpation on the 11-12th days which reduced infestation to between 5.67 and 29.09% of the checks, with a mean of 19.41%.*


### BIBLIOGRAFIA


1 — Barber, G. W. — 1938 — New control methods for the corn ear worm. *Jour. Econ. Ent.*, 31: 459.

2 — Costa Lima, A. M. — 1936 — Terceiro Catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Escola Nacional de Agronomia. Rio de Janeiro.

3 — Isely, D. — 1935 — Relation of hosts to abundance of cotton boll worm. *Agr. Exp. Sta. Arkansas Bull.* 320.

4 — JOHNS, D. M. & BROWN, H. B. — 1941 — Effect of date of planting on corn yields, insect infestation, and fungous diseases. *Louisiana Bull.* 327.

5 — MONTE, O. — 1934 — Borboletas que vivem em plantas cultivadas. *Secret. da Agricultura* — Est. Minas Gerais.

6 — NETTLES, W. C. — 1936 — Important field crop insects. *Clemson Agr. College Bull.* 96.

7 — NETTLES, W. C. — 1936 — Report fifteenth annual conference of the Central States Entomologists. *Iowa State College.*

8 — SNIPES, B. T. — 1939 — Experiencias sobre o combate de Heliothis obsoleta Fabr., praga do milho. *Rev. de Ent.*, Rio de Janeiro. 10: 289-309.

9 — WILSON, A. — 1929 — Insects and their control. — Thatcher-Anderson. New Brunswick. N. J.

# ADIÇÃO DE NITROGÊNIO A PRECIPITADOS ESPECÍFICOS EM PRESENÇA DE COMPLEMENTO BOVINO

POR

O. Bier e E. Trapp

Do Instituto Biologico de S. Paulo

HEIDELBERGER (2) mostrou que é possível dosar a quantidade absoluta de complemento, ou, melhor dito, da parte do complemento que se fixa ao complexo antígeno-anticorpo, estabelecendo-se a diferença entre a dosagem de nitrogênio nos precipitados específicos formados, de um lado, em presença de sôro fresco e, de outro, em presença do mesmo sôro inativado.

Tal método, que obedece em linhas gerais á mesma técnica dos métodos quantitativos para a dosagem de aglutininas (4) e de precipitinas, foi aplicado á dosagem dos complementos de cobaia e humano, tendo-se obtido em ambos os casos valores da ordem de 0,03 a 0,05 mg de C'N (1) por ml (2,3).

Pareceu-nos interessante aplicar o novo método quantitativo á dosagem do complemento bovino e isso por duas razões principais:

1.º Pela facilidade de se trabalhar com grandes quantidades de material (2).

2.º Pelo fato de ser o complemento bovino praticamente uma solução pura de C'1 — o que poderia elucidar a questão de quais os componentes do complemento que efetivamente adicionam N aos precipitados específicos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### MATERIAL E MÉTODOS

O complemento (C') foi obtido pela sangria de bovinos adultos, sendo o sôro separado no mesmo dia, conservado na geladeira, recentrifugado no dia seguinte e usado a seguir nas experiências.

O sôro inativado (iC') foi preparado distribuindo-se o sôro fresco em tubos, em porções de cerca de 10-15 ml, imergindo os tubos em banho-maria a 56º e procedendo á "inativação" durante 30 minutos contados a partir do momento em que a temperatura atingia a 56º no interior do tubo (termômetro dentro do sôro). Geralmente em 3' a temperatura no líquido dos tubos se equilibrou com a temperatura do banho-maria.

---

(1) De acôrdo com a nomenclatura proposta por HEIDELBERGER, C' representa abreviadamente o complemento total, ao passo que os símbolos C'1, C'2, C'3 e C'4 se referem a "mid-piece", "end-piece", 3.º e 4.º componentes respectivamente.

(2) Em algumas experiências preliminares, HEIDELBERGER (comunicação pessoal) não conseguiu demonstrar adição de quantidades dosáveis de N em presença de sôro fresco de cavalo.

Os precipitados específicos foram obtidos de 2 sistemas: sôro antipneumocócico III - polisacarídeo III e sôro antiovalbumina - ovalbumina cristalina.

Quantidades rigorosamente medidas dos vários reativos foram distribuidas em uma série de tubos, tendo-se o cuidado de misturar primeiro o antisôro com C' ou iC' antes da adição do antígeno. Os tubos foram, então, misturados cuidadosamente e deixados á temperatura ambiente até formação de precipitado floculento. Tal precipitação se forma quasi simultaneamente nos tubos em que o imune-sistema está em presença de água fisiológica ou de iC', levando consideravelmente mais tempo para constituir-se em presença de C'.

Após uma noite na geladeira, eram os tubos centrifugados, os precipitados cuidadosamente desintegrados e lavados com água fisiológica, com recentrifugação dos sobrenadantes.

Os precipitados lavados foram transferidos quantitativamente para balões de Kjeldahl, digeridos, a amônea distilada para uma solução de ácido bórico e titulada diretamente com HCl n/70.(1) As determinações, feitas sempre em triplicata, mostraram uma concordância altamente satisfatória.

## EXPERIÊNCIAS

Lote A. Sôro antipneumocócico III B-69 (3,35 mg N específico /ml). diluido na proporção de 1 volume mais 5 de água fisiológica.
S III: 1 mg em 25 ml de água fisiológica.

| N.º de tubos | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C' ml | 5 | 5 | | | | | 5 |
| iC', ml | | | 5 | 5 | | 5 | |
| Diluição do sôro, ml. | | 1.0 | | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Diluição de S III, ml. | 1.0 | | 1.0 | | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Água fisiológica, ml. | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 5 | | |
| N precipitado, mg. (média) | 0,053 | | 0,046 | | 0,440 | 0,458 | 0,630 |
| Subtração dos brancos | | | | | | 0,046 | 0,053 |
| | | | | | | 0,412 | 0,577 |
| Subtração do valor de iC' | | | | | | | 0,412 |
| (C'N precipitado, mg) | | | | | | | 0,165 |
| C'N / ml | | | | | | | 0,033mg |

Lote B. Mesmo imune-sistema da dosagem anterior.

| N.º de tubos | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C' ml | 5 | 5 | | | | | 5 |
| iC', ml | | | 5 | 5 | | 5 | |
| Diluição do sôro, ml. | | 1.0 | | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Diluição de S III, ml. | 1.0 | | 1.0 | | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Água fisiológica, ml. | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 5 | | |
| N precipitado, mg. (média) | 0,011 | | 0,023 | | 0,402 | 0,432 | 0,566 |
| Subtração dos brancos | | | | | | 0,023 | 0,011 |
| | | | | | | 0,409 | 0,555 |
| Subtração do valor de iC' | | | | | | | 0,409 |
| (C'N precipitado, mg) | | | | | | | 0,146 |
| C'N / ml | | | | | | | 0,03mg |

(1) Um de nós (O. B.), em recente estágio no laboratório do Prof. M. Heidelberger (Dept. Med., Presbyterian Hosp., Columbia Un., New York), teve ocasião de se familiarizar com todos os pormenores do método quantitativo desenvolvido naquele laboratório.

Lote C. Imune-sistema antiovalbumina. Sôro C 246 (28mg. N específico /ml) 1:1. Sol. de ovalbumina cristalina (66 mg/ml) 1:8.

| N.º de tubos | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C', ml. | 5 | 5 | | | | | 2 | 4 | 6 |
| iC', ml. | | | 5 | 5 | 2 | 6 | | | |
| Dil. sôro, ml. | 1.5 | | 1.5 | | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| Dil. Oa ml. | | 0.5 | | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Água fisiológica, ml. | | | | | 2 | | 2 | | |
| N precipitado, mg (média) | 0,017 | | 0,021 | | 0,380 | 0,395 | 0,439 | 0,480 | 0,505 |
| Subtração dos brancos | | | | | 0,372 | 0,371 | 0,432 | 0,466 | 0,484 |
| Subtração do valor de iC' (C'N precipitado, mg) | | | | | | | 0,06 | 0,095 | 0,113 |
| C'N / ml, mg. | | | | | | | 0,03 | 0,024 | 0,019mg |

COMENTÁRIOS

As análises procedidas em 3 diferentes lotes de complemento bovino, tanto com o imune-sistema S III - anti SIII, quanto com o sistema Oa - anti Oa, mostram que a quantidade de C'N no sôro bovino é proximamente da mesma ordem de magnitude que a encontrada por HEIDELBERGER et al. nos sôros de cobaia e humano (0,03 mg N/ ml).

O mesmo efeito de solubilidade verificado com os complementos de cobaia e humano foi observado com o complemento bovino (lote C): 0,02 mg N/ ml quando a dosagem foi feita em 6 ml, 0,025 mg N/ ml quando a dosagem foi feita em 4 ml e 0,03 mg N/ ml quando a dosagem se fez em 2 ml. Deve-se, pois, tomar provisoriamente um limite de flutuação de 0,02 - 0,03 mg C'N/ ml para o sôro bovino, isto é, um limite um pouco inferior ao admitido para os complementos de cobaia e humano (0,03 - 0,05 mg/ml).

O N adicionado de complemento bovino deve ser considerado como C'1, pois é sabido que o sôro fresco de bovino contém apenas o 1.º componente do complemento (cêrca de 1.000 unidades, de acôrdo com as nossas verificações) e um pouco de C'3 (100 unidades, segundo HEGEDÜS & GREINER), porém não contém C'2, nem C'4. Ora, como o 3.º componente praticamente não se consome por ocasião da fixação do complemento, póde-se afirmar, com muito pouca probabilidade de êrro, que os valores de N encontrados em nossas dosagens de complemento bovino representam efetivamente C'1 N.

Experiências complementares sôbre êste ponto serão referidas em trabalho posterior mais pormenorisado.

## ADDITION OF NITROGEN FROM BOVINE COMPLEMENT TO SPECIFIC PRECIPITATES

*Abstract*

*1. Heidelberger's quantitative method has been used for the estimation of complement in beef serum and lead to values of about the same order of magnitude as in guinea pig and human sera.*

*2. A "solubility effect" is also present in beef complement, somewhat larger quantities of C'N/ml being obtained from smaller samples. The values between 0,02 and 0,03 mg of N/ ml are provisionally taken as the normal range of fluctuation for beef sera.*

*3. In the case of beef serum the N added must be considered, with a very small probability of error, as midpiece nitrogen.*

### BIBLIOGRAFIA

1) Hegedüs, A. & Greiner, H. — 1938 — Quantitative Bestimmung der Komplementbestandteile. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 92, 1-9.

2) Heidelberger, M. — 1941 — Quantitative Chemical Studies on Complement or Alexin — I. A Method. *Journ. exp. med.* 73, 681-694.

3) Heidelberger, M. & Mayer, M. — 1942 — Quantitative Chemical Studies on Complement or Alexin — IV. Addition of Human Complement to Specific Precipitates. *Journ. exp. med.* 75, 285-295.

4) Heidelberger, M. & Kabat, E. A. — 1934 — Chemical Studies on Bacterial Agglutination. I. A Method. *Journ. exp. med.* 60, 643-653.

———o———

Vol. 13 — Art. 20 Dezembro de 1942

# DUAS NOVAS ESPECIES DE COCCIDEOS DO BRASIL
## (HOMOPTERA - COCCOIDEA)

POR

O. Giannotti

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 11 figuras no texto

A especie que passo a descrever pertence á tribu *Diaspidini*, genero *Niveaspis* MACG. e é a quarta desse genero encontrada no Brasil.

Pelos caracteres externos assemelha-se muito ás especies já descritas em nosso territorio, das quais porem se diferencia por determinadas estruturas do pigidio, conforme pode ser verificado pela descrição abaixo.

### *Niveaspis Lepagei*, sp. n.

Figs. 1-6

Escudo da femea adulta de côr branco-assetinada, longo, estreito, medindo cerca de 3,5 a 4 milímetros de comprimento por 0,3 a 0,4 milímetros de largura, réto ou recurvado, com exuvias larvais localizadas na extremidade anterior, de côr alaranjada; escudo ventral presente, delicadissimo. Escudo do macho semelhante ao da femea, porém menor. A femea adulta é de côr alaranjada, medindo cerca de 2,9 milímetros de comprimento, de lados quasi paralelos, sendo aproximadamente 2/3 ou mais do seu comprimento constituidos pela cabeça e segmentos do torax; quando completamente desenvolvida torna-se bastante quitinizada, ficando transparentes apenas o pigidio, os primeiros segmentos prépigidiais e a região cefálica. Estigmas anteriores situados ao lado do aparelho bucal e os posteriores aproximadamente na extremidade do terço medio do corpo; antenas presentes como simples tuberculos com um pêlo grande e curvado na extremidade.

Pigidio arredondado, apresentando dois pares de lobulos bem definidos, sendo os do par mediano de forma arredondada, tão longos quanto largos, não zigóticos, com um leve entalhe de cada lado, e os do segundo par bilobados, tambem de forma arredondada; na sua base nota-se um cordão esclerosado, verificando-se no par mediano, além do cordão, o início da formação de um processo escleroso.

Depois do segundo par de lobulos a margem do pigidio apresenta-se serreada, com pequenos entalhes que correspondem á abertura dos macrodutos marginais; placas presentes, mais longas do que os lóbulos, cuja distribuição é a seguinte: uma entre os lóbulos medianos, uma entre este o segundo par de lóbulos, e uma logo depois do segundo par.

Dorsalmente, nas margens do pigidio e do primeiro segmento prepigidial, abrem-se 7 pares de ductos glandulares, de grandes dimensões e de forma mais ou menos cilindrica; a abertura da primeira glandula localiza-se na incisão entre o primeiro e o segundo par de lóbulos, as cinco seguintes abrem-se nas margens do pigidio a distancias aproximadamente iguais, e a setima em uma saliencia da margem do primeiro segmento prépigidial; proximo á linha mediana do corpo e um pouco abaixo da abertura anal, abrem-se dois pares de ductos glandulares semelhantes aos marginais.

Na região anterior do pigidio e nos outros segmentos do abdomem aparecem glândulas tubulares de pequenas dimensões, dispostas mais ou menos em grupos submarginais e submedianos.

Abertura anal arredondada; vulva situada entre o anus e a extremidade do pigidio, porém mais proxima do anus. Macho semelhante ao das outras especies de *Niveaspis*.

*Habitat* — Encontrado pelo autor em 6-1942, sobre folhas de planta silvestre, na localidade de Rondinha, Município de Burí.

Este coccideo localiza-se de preferência na nervura mediana e nos bordos da folha.

Ao ilustre coccideologista Dr. H. S. LEPAGE dedico a presente especie.

Material típico — Incorporado á coleção entomologica do Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura do Estado de São Paulo (Instituto Biologico).

Examinando material coletado pelo entomologista J. PINTO DA FONSECA em 12-1930, verifiquei tratar-se de uma nova especie do genero *Aspidiotus* BOUCHÉ, que passo a descrever.

## *Aspidiotus Fonsecai*, sp. n.

Figs. 7-11

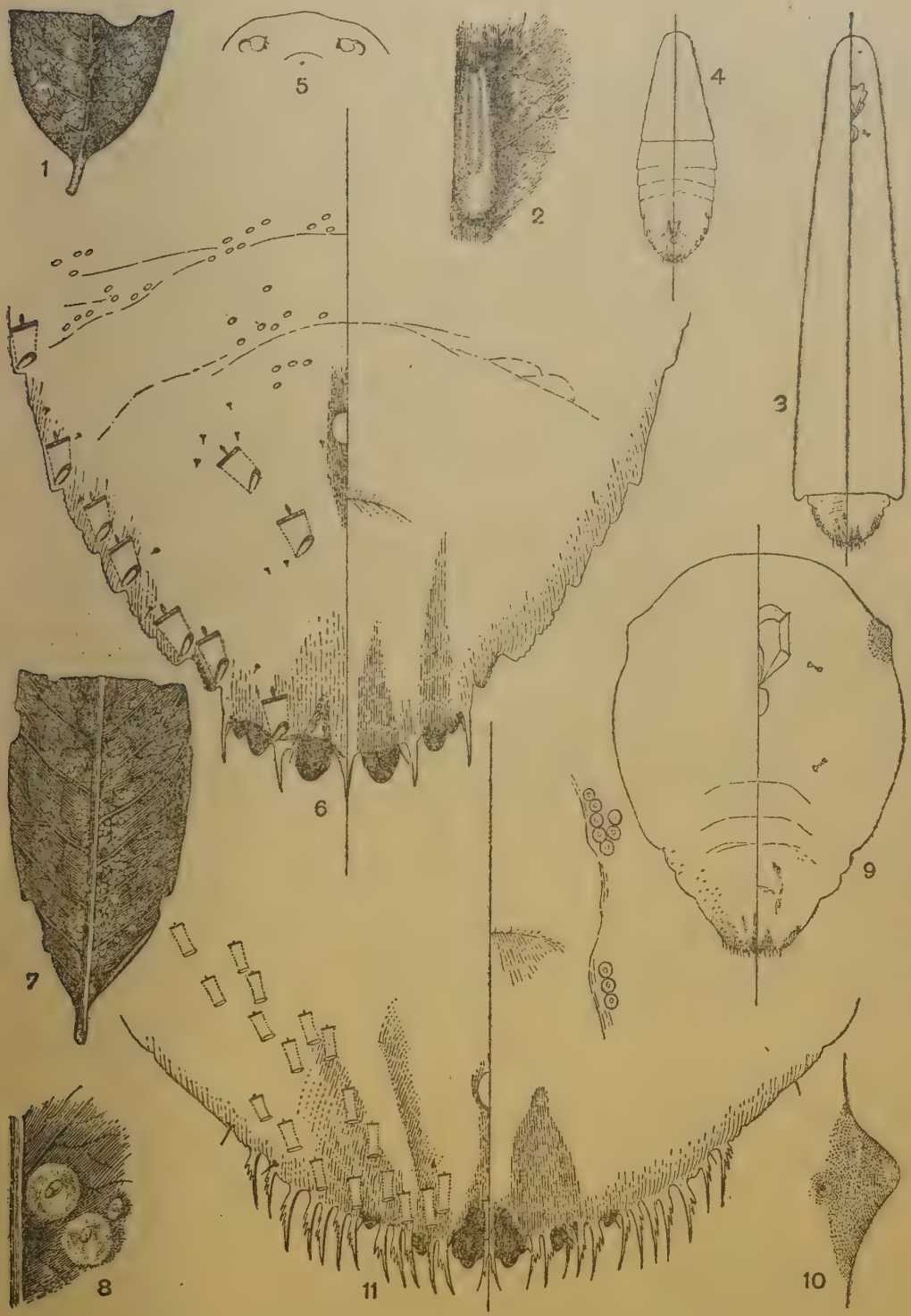
Escudo da femea adulta circular, de 1,3 milímetros de diametro, chato, de côr cinzenta, exuvia central ou subcentral, alaranjada. Escudo do macho mais claro que o da femea, menor, alongado e com exuvia subcentral.

Femea adulta com cerca de 0,8 milímetros de comprimento, alongada, notando-se a presença de dois tuberculos esclerosados de cada lado do corpo, mais ou menos na altura do aparelho bucal, conforme se pode vêr no desenho que ilustra esta descrição. Entretanto, conforme verificamos nas preparações feitas, alguns exemplares não apresentam esses tuberculos. Derme transparente, com exepção do pigidio, onde se notam os desenhos de esclerosação típicos do genero. Três pares de lóbulos pigidiais bem desenvolvidos, sendo os medianos os maiores, bem separados, com dois pequenos entalhes de cada lado, e com uma esclerosação basal extendendo-se para dentro do pigidio; segundo par de lóbulos bem menor, sem denteação visivel, e terceiro par igual ao segundo, porém menor. Placas mais longas que os lóbulos, existindo duas entre os lóbulos medianos, duas entre os medianos e o segundo par, três entre o segundo e o terceiro par, e de 6 a 7 depois do terceiro par.

Ductos dorsais curtos e reforçados, dispostos em uma zona submarginal do pigidio, chegando a alcançar o segundo segmento prépigidial.

---

*Niveaspis Lepagei*, n. sp. (Figs. 1-6) Fig. 1 - Folha infestada (metade do tamanho natural). Fig. 2 - Escudo feminino (aumentado). Fig. 3 - Femea adulta, × 23. Fig. 4 - Segunda exuvia feminina, × 15. Fig. 5 - Detalhe da região cefálica, × 250. Fig. 6 - Pigidio da femea adulta, × 250. *Aspidiotus Fonsecai*, n. sp. (Figs. 7-11) Fig. 7 - Folha infestada (metade do tamanho natural). Fig. 8 - Escudos feminino e masculino (aumentado). Fig. 9 - Femea adulta, × 68. Fig. 10 - Detalhe do tuberculo lateral, × 250. Fig. 11 - Pigidio da femea adulta, × 250.




Explicação das Figuras, vide à pag. 214

Póros perivulvares presentes em 4 grupos, possuindo maior numero de poros o grupo anterior; abertura anal arredondada, localizada abaixo do centro do pigidio.

*Habitat* — Encontrado em São Paulo em 12-1930, sobre folhas de planta ornamental, pelo entomologista J. PINTO DA FONSECA, a quem dedico a especie.

Material típico — Incorporado á coleção entomologica do Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura do Estado de São Paulo. (Instituto Biologico).

## TWO NEW SPECIES OF BRAZILIAN COCCIDAE

(HOMOPTERA - COCCOIDEA)

*Abstract*

*In the present paper the following two species have been described as new to science: Niveaspis lepagei, taken at Rondinha, in the State of S. Paulo, and Aspidiotus fonsecai, from S. Paulo.*

### BIBLIOGRAFIA

FERRIS, G. F. — 1938 — Atlas of the scale Insects of North America. Stanford University.

FERRIS, G. F. — 1941 — Microentomology. The genus Aspidiotus. Stanford University.

LEPAGE, H. S. — 1935 — Uma nova especie do genero Chionaspis. *Arq. Instituto Biologico*, São Paulo, 6, 167-170.

LEPAGE, H. S. — 1939 — Duas novas especies de coccideos do Brasil. *Arq. Instituto Biologico*, São Paulo, 10, 313-318.

———o———

# VACINAÇÃO CONTRA A PESTE SUINA COM VACINA MISTA DE SANGUE E BAÇO TRATADOS PELO CRISTAL VIOLETA

POR

A. M. Penha e M. D'Apice

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Em face da epizootia ocorrida em 1939, e considerando que dos métodos de combate à peste suina, o ideal seria uma vacina, ensaiamos a principio, ao lado do método clássico (sôroterapia e inoculação simultânea — sôro e virus) o emprego da vacina de cristal violeta.

O preparo dessa vacina, objeto de um trabalho anterior, PENHA, 1940 (11), consistia no emprego da polpa de baço e ganglios, proveniente de porcos sacrificados em período agudo da doença, tratada pelo cristal violeta após previa junção de acido fênico.

O emprego sistemático dêste tipo de vacina, nos permitiu obtêr resultados eficientes e satisfatórios, não se havendo observado, em numerosas experiências no laboratório e no campo, qualquer acidente vacinal. Infelizmente, o rendimento reduzido, tornava nossa vacina de aplicação prática restrita.

Pareceu-nos, por isso, necessário estudar a possibilidade de se preparar uma vacina de sangue tratada pelo cristal violeta tal como a de DORSET, 1936 (15 e 16), em vista dos excelentes resultados obtidos por numerosos pesquizadores; Office Vétérinaire Fédéral Suisse, 1937 (10); GEIGER, 1938 (4); RUBINO e TORTORELLA, 1938-1940 (12 e 13); TOPACIO, 1939 (14); MONGIARDINO & GRAF HETZE, 1941 (8).

Devemos assinalar particularmente os trabalhos de COLE & MC BRYDE, 1941 (1) que introduzindo modificações importantes na técnica do preparo da vacina, obtiveram um produto que foi aplicado com resultados satisfatórios em 12.572 porcos correspondentes a 236 criações, no período de 5 anos (Nov. 1935 a Out. 1940).

Em contraposição a êsses resultados, alguns pesquizadores estabeleceram algumas restrições no emprego dêste tipo de vacina, destacando-se particularmente: MUNCE, 1937 (9); DE BLIECK & JANSEN, 1939 (2); EDGINGTON & SCHALK, 1939 (3) e HUPBAUER & LUGOMER, 1940 (6).

Em nossos ensaios, para obtenção e preparo da vacina segundo MCBRYDE e COLE, 1936 (7) verificamos um serio inconveniente, fato aliás já assinalado por HUPBAUER & TOMASEC, 1937 (5). Em nossas condições de trabalho, deviamos inutilizar um grande número de par-

tidas porque se apresentavam contaminadas. Tal acidente não era devido à falta de assepsia, mas sobretudo em virtude da bacteriemia que os porcos geralmente apresentavam por ocasião da sangria. Após numerosas tentativas, essas dificuldades foram felizmente vencidas, permitindo mesmo obtêr um tipo de vacina mista de sangue e baço, objeto dêste trabalho.

## TRABALHO EXPERIMENTAL

Todas as experiências que vamos relatar foram efetuadas em porcos Duroc-Jersey e Edelschwein, de criação deste Instituto e parte com porcos mestiços provenientes de uma criação particular. Em ambos os casos tratava-se de animais de 4 a 5 meses de idade, pesando em média 30 a 50 quilos, seguramente indenes de peste, criados e mantidos em bôas condições de higiene.

As provas foram realizadas em 5 grupos de pocilgas, isolados, compreendendo cada grupo 5 pocilgas separadas, permitindo realizar em bôas condições todas as experiências.

V i r u s — De porcos sacrificados no período agudo da doença, e que na necropsia apresentassem lesões típicas de peste aguda, retiravam-se o baço e os ganglios que, reduzidos a pequenos fragmentos, eram colocados em frascos neutros contendo água distilada e glicerina em partes iguais, e conservados na geladeira. Por ocasião da inoculação do virus, trituravam-se os fragmentos de baço em gral, emulsionando-se a pôlpa em 2 ou 3 partes de água fisiológica, filtrando a seguir em gaze, obtendo-se uma suspensão que era inoculada no dia do preparo por via intramuscular, na dose de 2 cc.

A temperatura dos porcos inoculados, tomada diariamente desde a inoculação até o dia da sangria, permitiu-nos controlar a evolução da doença. As manifestações clínicas eram igualmente consideradas ao lado da reação térmica; assim, no 2.º ou 3.º dia, a hipertermia vinha acompanhada por diminuição do apetite, prostração, perda da vivacidade, permanecendo os porcos sonolentos e amontoados num canto da pocilga. Nos dias subsequentes as manifestações acima se acentuavam, ao mesmo tempo que se iniciavam os sintômas típicos da doença. Uns apresentavam tosse, respiração ofegante, acelerada e dificil; outros diarréia fétida e, às vezes, sanguinolenta; outros ainda, petequias cutaneas, lesões oculares, hematuria, etc.

De um modo geral, os porcos para preparo da vacina ou destinados a fornecer o virus eram sacrificados no 6.º ou 7.º dia após a inoculação do virus, desde que apresentassem nos 3 últimos dias temperatura acima de 40°C. Esta condição foi sistematicamente satisfeita durante estes 2 últimos anos, atestando a alta virulência de nosso

virus, permitindo, por isso, obter vacina e sôro hiperimune, respectivamente, de alto valor antígenico e protetor.

Os porcos a serem sangrados a branco eram suspensos pelas patas trazeiras, procedendo-se a seguir à lavagem, ensaboamento, raspagem dos pêlos e desinfeção da pele com tintura de iodo a 5%, retirando o excesso com alcool. A região compreendia uma superfície de 20 × 15 cms., abrangendo as regiões do pescoço, preexternal e axilar. Dois auxiliares imobilizavam o animal, segurando as orelhas e membros anteriores. Assim disposto, introduzia-se uma faca de ponta, previamente esterilizada pela fervura, na região preexternal, passando no espaço entre as duas primeiras costelas, atingindo diretamente o coração. O sangue jorrava através da ferida em quantidade abundante, sendo recolhido em provetes de 2.000 cc., préviamente desinfetados, (*) e a seguir desfibrinado com bastão de vidro e filtrado em peneira metálica, malha de 1,5 mm. (esterilizada em água fervente) afim de reter possiveis coagulos. Êste sangue desfibrinado constituia o virus que serviria para o preparo da vacina ou para hiperimunizar porcos destinados a fornecer o sôro hiperimune.

Após a sangria, o porco era necropsiado afim de se analizar a extensão e intensidade das lesões de peste e ausência de tuberculose. Ao mesmo tempo colhiamos, em condições de relativa assepsia, o baço e ganglios destinados ao preparo da vacina ou à conservação do virus.

Em 600 porcos, inoculados experimentalmente, conforme descrevemos, verificamos lesões nos diversos orgãos e na seguinte ordem de frequência: baço, rins, bexiga, ganglios, pulmões, intestino e pele.

Preparo da vacina — A pôlpa de baço e ganglios tratada pelo cristal violeta não sofreu modificação substancial no seu preparo. O único aperfeiçoamento introduzido consistiu na obtenção de uma pôlpa mais fina e homogenea graças ao "colloid mill" da firma Eppenbach, Long-Island City, New York, U. S. A. Dessa forma, aumentamos consideravelmente a concentração da vacina, permitindo vacinar animais com dose inferior à comumente usada.

Em publicação anterior reconheciamos que o rendimento dêste tipo de vacina era pequeno; por isso tornava-se forçoso tentar obter a vacina com sangue, de acôrdo com a técnica descrita por DORSET e colaboradores. Sangue desfibrinado, proveniente de porcos sacrificados em período agudo da doença, constituia o virus para o preparo da vacina, desde que êle fosse absolutamente estéril.

Nossas partidas preparadas segundo o método que MCBRYDE e COLE denominavam de "regular vaccine" não deu, em nossas experiên-

(*) A desinfeção dos provetes era obtida colocando-se 50 cc. de formol, tapando-se com uma folha de papel mantida com um elástico. Assim permaneciam pelo menos 1 semana. No momento do uso, retirava-se o formol e lavava-se 3 vezes consecutivas com água fisiológica estéril.

cias iniciais, resultados muito favoraveis. Mostravam-se sistematicamente contaminadas, sobretudo por *Salmonella*, *Pseudomonas* e, mais raramente, *Pasteurella*.

Intrigados com êsse fato, decidimos verificar a origem dessas contaminações, partindo do conceito de que tais germens deviam existir no sangue no momento da sangria. Para isso, retiravamos assépticamente, com uma seringa, 0,5 cc. de sangue da veia marginal externa da orelha dos porcos inoculados, no dia em que apresentassem elevação térmica, semeando-o em caldo simples; no dia seguinte procediamos ao isolamento das colonias em placas de agar sangue e de *Teague*. Êsse exame era repetido diariamente até o dia da sangria a branco.

O número de exames é relativamente pequeno, 10 animais apenas; entretanto, conseguimos isolar a partir do 5.º dia após a inoculação do virus, *Salmonella* em 6 casos, 2 vezes *Pseudomonas* e 1 vez *Pasteurella*. Não pretendemos generalizar sem assentar nossas afirmações em um maior número de provas; todavia êsse resultado é significativo, mostrando, pelo menos em nossas condições de trabalho, quão dificil é obter o sangue absolutamente estéril. Acresce a circunstância de que tal material assim contaminado não podia ser utilizado para o preparo da vacina segundo o método de DORSET, resultando, por conseguinte, na rejeição quasi sistemática de todas as partidas a serem preparadas.

Em contraposição, nossa vacina de baço e ganglios apresentava-se quasi sempre contaminada pela *Salmonella* no momento do preparo, mas após 14 dias de permanência na estufa tornava-se absolutamente estéril. Ora, essa esterilização só podia correr por conta do acido fênico, pois em varias provas observamos que a solução de cristal violeta era insuficiente para destruir todos os germens existentes no sangue ou na pôlpa de baço e ganglios. Si a junção de acido fênico era possível em nossa vacina de baço, o mesmo não acontecia com o sangue, pois, como já assinalaram DORSET e colaboradores, o acido fênico exerce ação desfavoravel sôbre o sangue, tornando-o gelatinoso. Nessas condições, o problema nos parecia insoluvel; mas a despeito de todas as dificuldades e no intuito de encontrar uma substância que sem alterar o virus tornasse possível a junção de acido fênico, procedemos a inumeros ensaios, conseguindo afinal verificar que, com a glicerina, tal objetivo era possível. A junção era feita sob a forma de água distilada glicerinada e fenicada.

Entre os inumeros ensaios preliminares fazendo variar a glicerina e o acido fênico, obtivemos resultados favoraveis com a seguinte mistura:

| | |
|---|---|
| Sangue desfibrinado . . . . . | 1.000 cc. |
| Água glicerinada a 50% e fenicada a 0,2% . . | 2.000 cc. |
| Solução de cristal violeta a 1% . . . . . | 150 cc. |

Essa mistura era colocada na estufa a 37°C durante 14 dias.

Com essa técnica conseguimos obter uma vacina absolutamente estéril, mesmo que o sangue estivesse contaminado na ocasião do preparo. A proteção oferecida por esta vacina na dose de 10 cc. para porcos adultos e 5 cc. para leitões resultou efetiva nas provas experimentais.

Apezar desses resultados, procedemos a mais alguns ensaios, no sentido de reduzir a quantidade de glicerina sem alterar as propriedades intrinsecas da vacina. Dessas experiências resultou o preparo de outra vacina, que pela ação antigenica, esterilidade e rendimento, podemos considerar praticamente satisfatória:

| | |
|---|---|
| Sangue desfibrinado . . . . . | 1.000 cc. |
| Água distilada glicerinada a 50% e fenicada a 0,2% . . . . . | 1.000 cc. |
| Solução de cristal violeta a 1% . . . . | 100 cc. |

Dessa forma, fornecendo um porco em média 800 cc. de sangue desfibrinado, êste produziria cerca de 160 doses.

Na prática havia certos inconvenientes em empregar dois produtos diferentes com efeito e resultado idênticos. Por isso, ensaiamos misturar as duas vacinas (sangue e baço) obtendo uma vacina única e mista. As provas preliminares mostraram que na proporção de 4 partes de vacina de sangue para 1 de baço obtinha-se, na dose de 10 cc., imunização ativa e duradoura contra 2 cc. de virus inoculado por via intramuscular.

Prova da vacina — Todas as provas foram realizadas com porcos Duroc-Jersey, Edelschwein e mestiços, sensiveis à peste, com 4 a 5 meses de idade, pesando 30 a 50 quilos.

Cada prova de vacina era feita em 5 animais, mantidos em pocilga previamente desinfetada com uma solução de cal extinta e soda caustica a 5%. A vacina era injetada por via intramuscular na face interna da côxa, na dose de 10 cc. Decorridos no mínimo vinte dias após a vacinação, procedia-se à inoculação do virus na dose de 2 cc. por via intramuscular. A temperatura e as manifestações clínicas eram anotadas diariamente afim de controlar a evolução da prova, por espaço de 18 dias, após a inoculação do virus.

O virus destinado a provar a resistência dos animais vacinados era injetado na mesma ocasião em um número variavel de 20 a 30 por-

cos que, além de testemunhas, serviam para fornecer o virus para preparo de nova vacina ou para hiperimunizar porcos destinados à produção de sôro.

Os únicos dados interessantes foram fornecidos pela temperatura, e esta, pelas variações apresentadas, foram, para maior simplicidade e clareza, englobadas de modo a se poder comparar a média aritmética das temperaturas dos 5 animais de prova de vacina e dos 20 a 30 porcos servindo cómo testemunhas. Êsse critério nos permitiu organizar gráficos cujas variações térmicas médias mostram de modo frizante o comportamento dos varios lotes de porcos vacinados em relação aos testemunhas. Gráficos 1 e 2.

Após a prova os porcos eram hiperimunizados para produção de sôro, não se tendo observado acidente algum durante a hiperimunização.

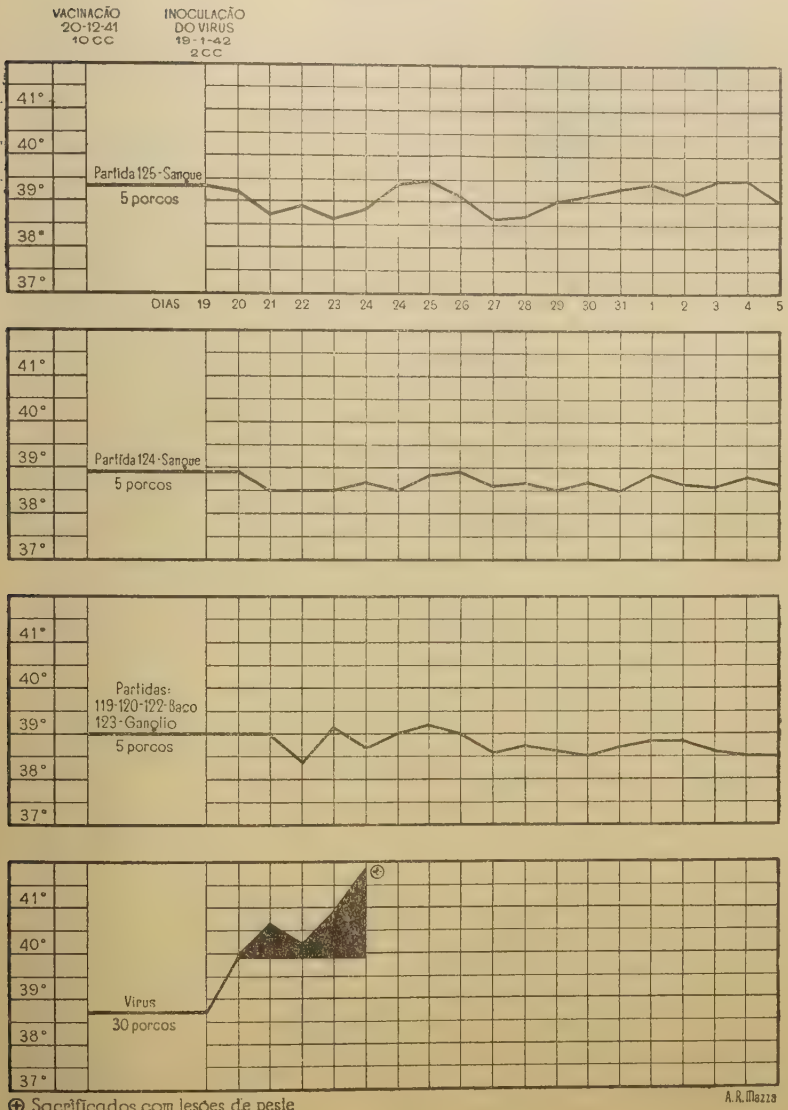
Datas de Preparo e Misturas das Partidas de Vacina Representadas nos Gráficos

| Nos. das Partidas de vacina | Data do preparo | Misturadas em: |
|---|---|---|
| 119 - 120 e 123 | 24 - 11 - 41 | |
| 124 | 27 - 11 - 41 | 16 - 2 - 42 |
| 125 | 4 - 12 - 41 | |
| 127 | 9 - 1 - 42 | 17 - 2 - 42 |
| 128 | 10 - 1 - 42 | |
| 129 | 27 - 1 - 42 | |
| 138 | 30 - 4 - 42 | |
| 139 | 20 - 5 - 42 | 14 - 6 - 42 |
| 140 I, II e III | 20 - 5 - 42 | |
| 130 | 25 - 2 - 42 | |
| 131 | 27 - 2 - 42 | |
| 132 | 2 - 3 - 42 | 23 - 3 - 42 |
| 133 | 3 - 3 - 42 | |
| 134 | 4 - 3 - 42 | |
| 4 | 28 - 9 - 39 | |
| 43 | 23 - 7 - 40 | |
| 78 | 20 - 1 - 41 | |
| 104 | 31 - 7 - 41 | |

A análise desses gráficos, representando as provas de varias partidas de vacina e respectiva data de preparação, indica que a vacina de sangue preparada segundo nossa técnica, é tão eficiente quanto a de baço e ganglios e a mistura de ambas, na razão de 4 partes da vacina de sangue para 1 parte da de baço, mostrou-se igualmente satisfatória.

Em nossas provas experimentais obtivemos solida imunidade na dose única de 10 cc. por via intramuscular na face interna da côxa,

GRÁFICO 1




⊕ Sacrificados com lesões de peste

GRÁFICO 2

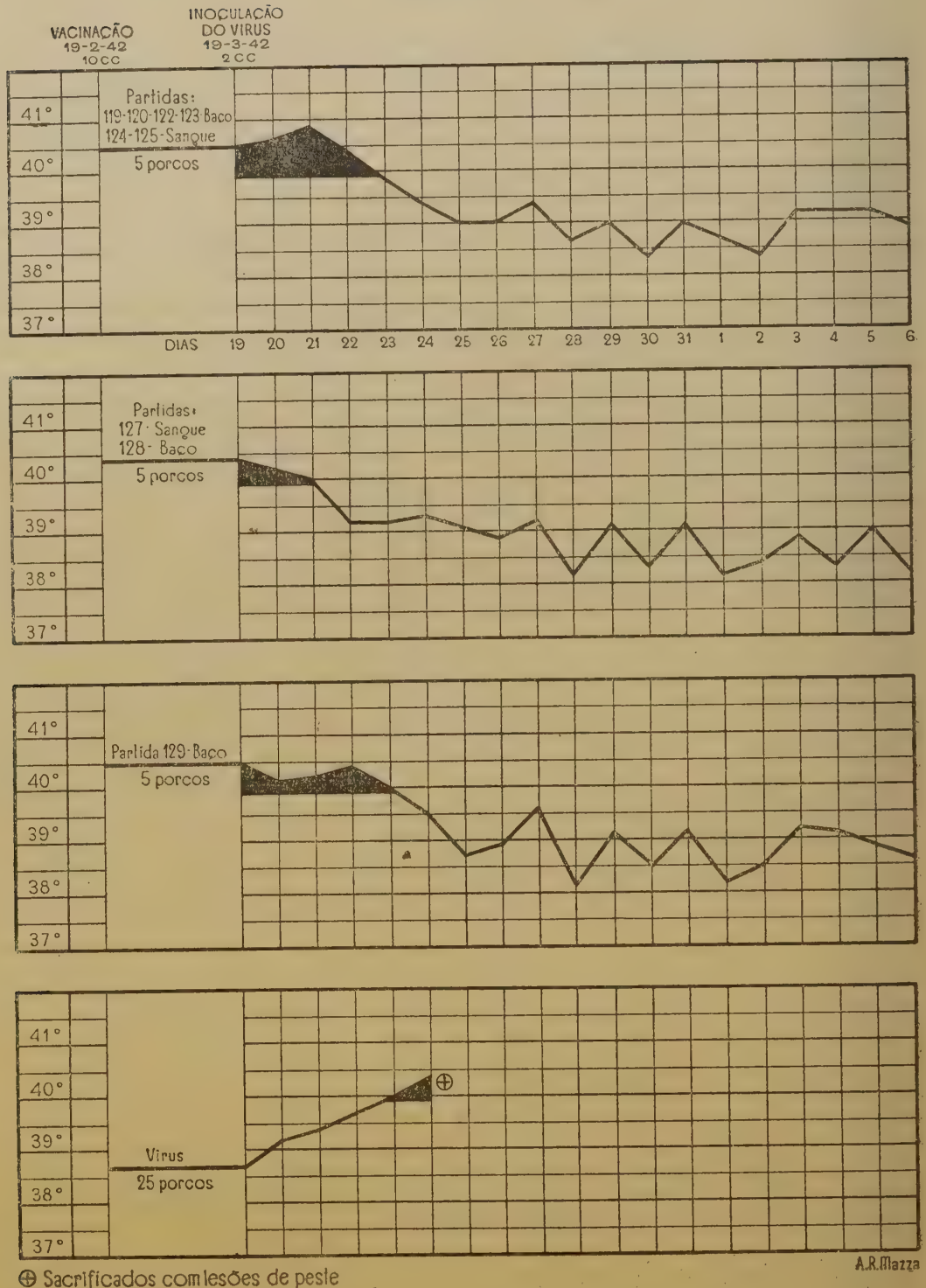

VACINAÇÃO
19-2-42
1 CC
INOCULAÇÃO
DO VIRUS
19-3-42
2 CC
Partidas:
119-120-122-123-Baco
124-125-Sangue
5 porcos
Partidas:
127-Sangue
128-Baco
5 porcos
Partida 129-Baco
5 porcos
Virus
25 porcos
41°
40°
39°
38°
37°
DIAS 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 1 2 3 4 5 6
⊕ Sacrificados com lesões de peste
A.R.Mazza

GRÁFICO 3

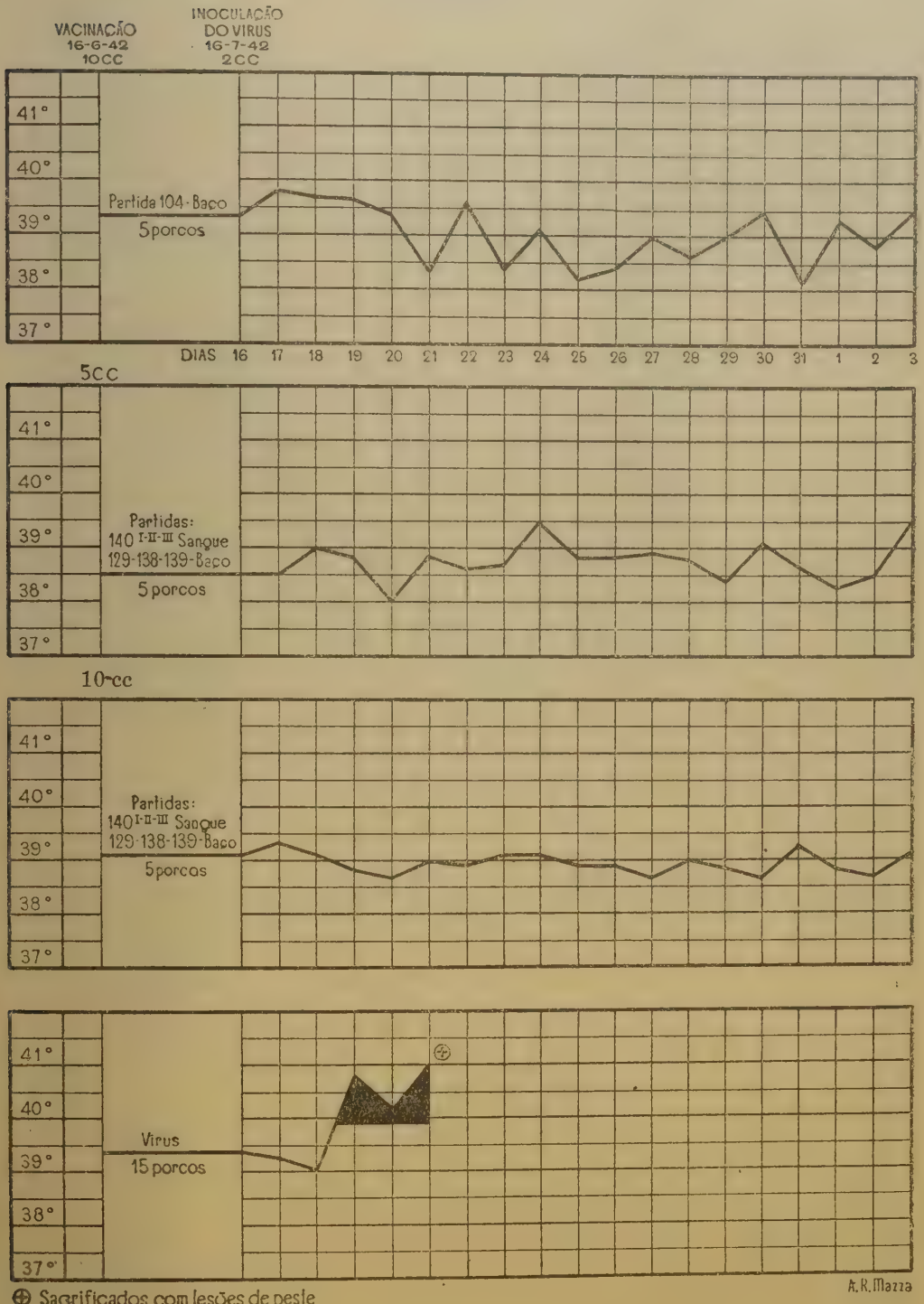
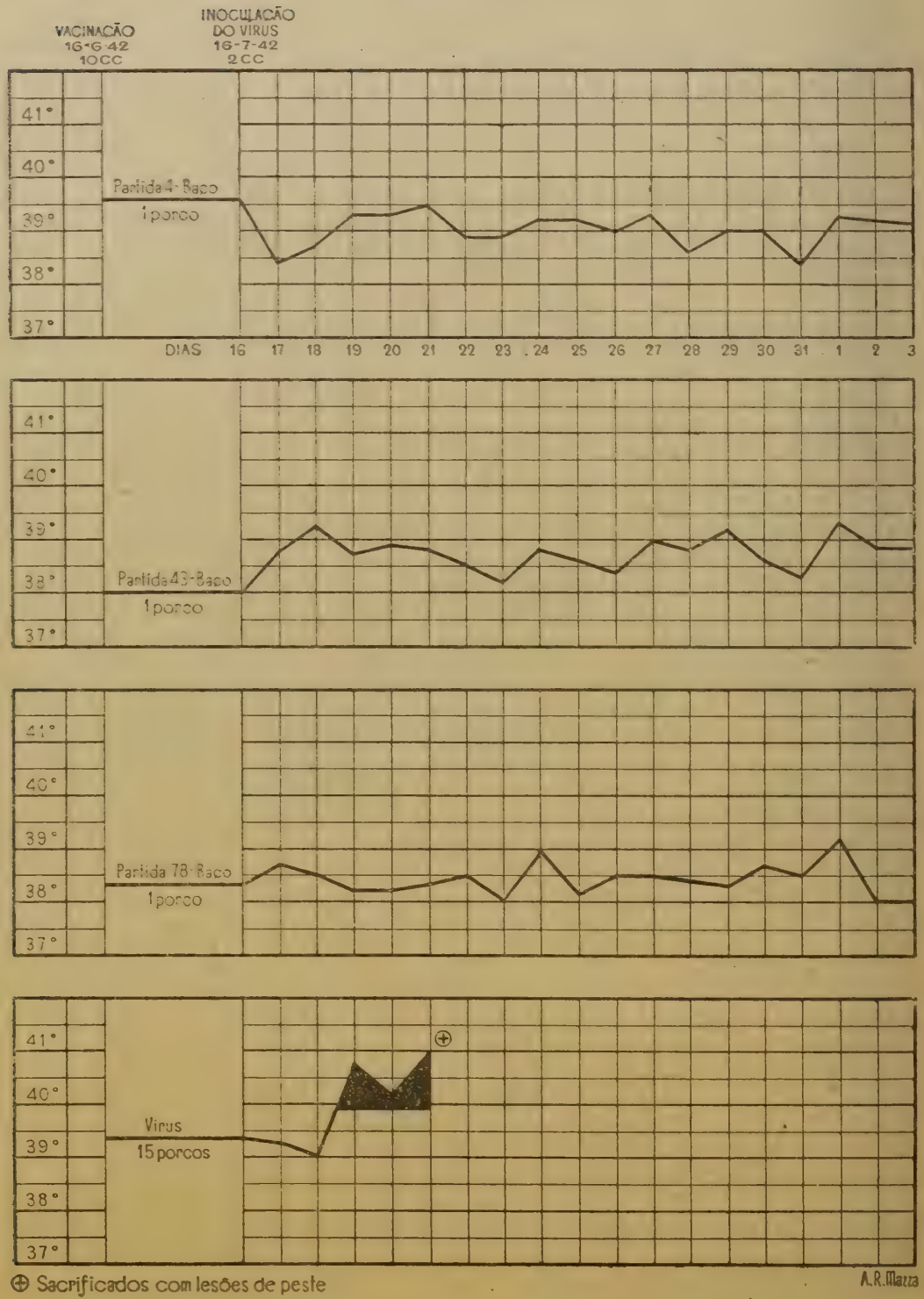
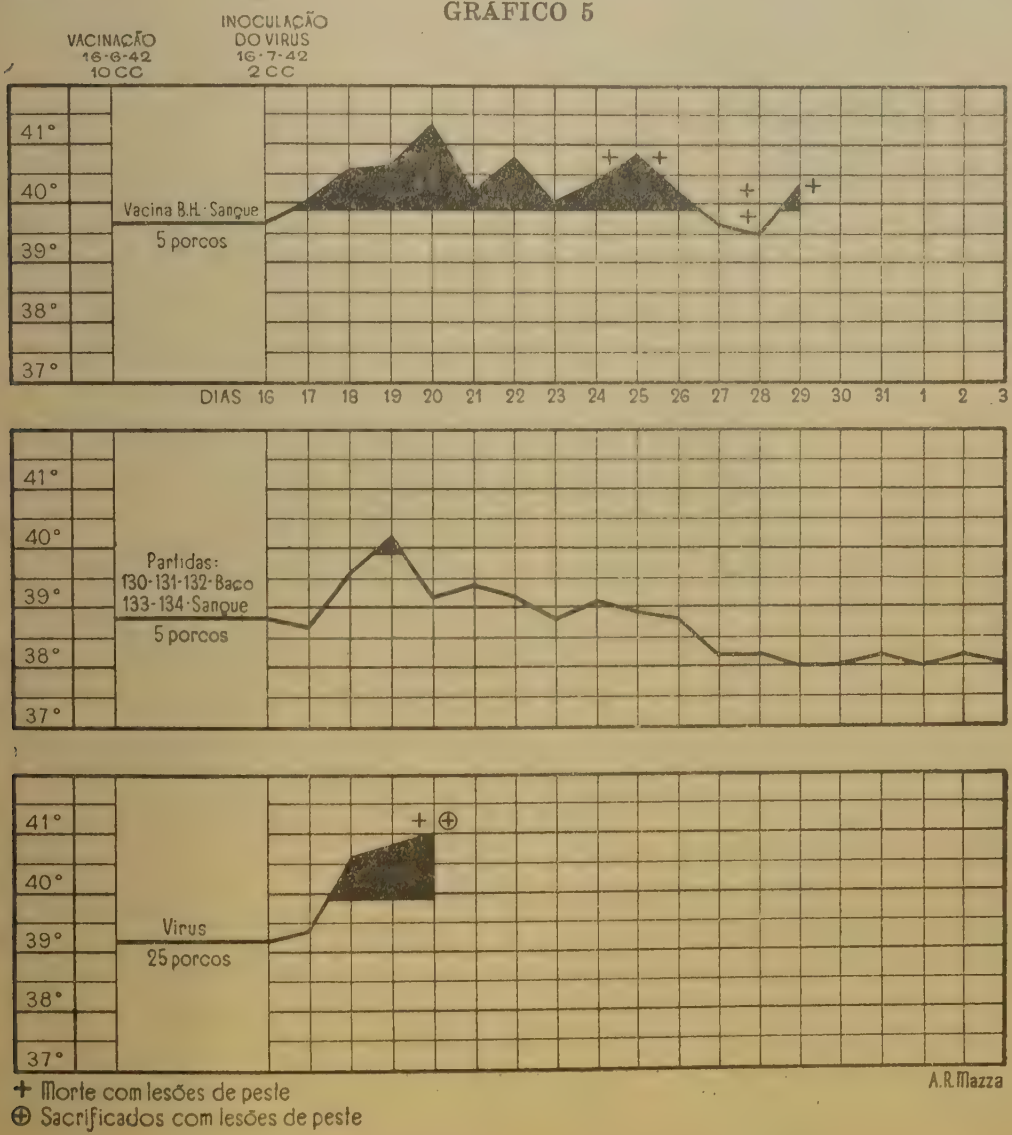

VACINAÇÃO
16-6-42
10CC
INOCULAÇÃO
DO VIRUS
16-7-42
2CC
41°
40°
39°
38°
37°
Partida 104 - Baço
5 porcos
DIAS 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 1 2 3
5cc
Partidas:
140 I-II-III Sangue
129-138-139-Baço
5 porcos
10-cc
Partidas:
140 I-II-III Sangue
129-138-139-Baço
5 porcos
Virus
15 porcos
⊕ Sacrificados com lesões de peste
A. R. Mazza

GRÁFICO 4


VACINAÇÃO
16-6-42
10CC
INOCULAÇÃO
DO VIRUS
16-7-42
2CC
41°
40°
39°
38°
37°
Partida 4 Baco
1 porco
DIAS 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 1 2 3
Partida 43 Baco
1 porco
Partida 78 Baco
1 porco
Virus
15 porcos
⊕ Sacrificados com lesões de peste
A.R.Mazza

após prévia desinfeção do local de injeção com tintura de iodo a 5%. Resultados animadores conseguimos reduzindo a dose para 5 cc., o que nos permite admitir a possibilidade de aumentar o rendimento da vacina.

GRAFICO 5




+ Morte com lesões de peste
⊕ Sacrificados com lesões de peste

Para dar uma idéia disso, numa das experiências, consignada no gráfico 3, usamos 5 cc. apenas, não verificando diferença sensivel em relação à imunidade obtida com a mesma partida na dose de 10 cc.

No intuito de verificar qual o tempo de conservação da vacina na geladeira, no que se refere à sua capacidade antigenica, usamos as partidas n.os 4, 43, 78 e 104, preparadas nos anos de 1939, 1940 e 1941, das quais conservamos amostras; verificamos que na dose de 10 cc.

por via intramuscular a resistência obtida era suficiente para proteger os porcos contra uma dose de 2 cc. de virus seguramente ativo. Gráficos n.os 3 e 4.

Em todas essas provas não tivemos a lamentar nenhum acidente, reação geral evidente ou infeção no ponto de inoculação, após a aplicação desses varios tipos de vacina.

## VACINAÇÃO NO CAMPO

Ao irromper a epizootia em 1939, o combate à peste se reduzia apenas à aplicação do sôro (de procedência argentina — "Fuerte Sancti Spiritu") e do método simultaneo, segundo os casos. Em 1940, data em que iniciamos a aplicação prática de nossa vacina de baço e ganglios, suspendemos definitivamente a aplicação do sôro e virus.

| Anos | Fócos | Aplicação de sôro | Aplicação de sôro e virus | Vacinação |
|---|---|---|---|---|
| 1939 . . . . . | 246 | 1.781 | 2.489 | — |
| 1940 . . . . . | 50 | 1.775 | — | 6.264 |
| 1941 . . . . . | 54 | 840 | — | 5.830 |
| 1942 (até junho) . | 6 | 150 | — | 2.100 |
| Totais . . . | 356 | 4.546 | 2.489 | 14.194 |

A aplicação da vacina foi feita sempre em animais sãos por via intramuscular na face interna da côxa, na dose de 10 cc. para os porcos adultos e de 5 cc. para os leitões, após prévia desinfeção do ponto de injeção com tintura de iodo a 5%. Os porcos assim vacinados, embora permanecendo nos fócos em plena evolução e agravados pelas más condições de higiene e alimentação (restos de comida de hotel) ofereceram rápida e solida imunidade, o que atesta a ativa capacidade antigenica de nossa vacina de sangue e baço. Em contraposição, com a vacina de sangue preparada segundo o método de DORSET e colaboradores, apezar de eficiente nas provas experimentais, registraram-se na prática varios acidentes. Em todos êstes casos observamos que as partidas empregadas achavam-se contaminadas no momento da aplicação. Em 1940 usamos apenas a vacina de baço e ganglios; no ano seguinte, a vacina de sangue segundo nosso método; e em fins dêsse ano até o momento, aplicamos a vacina mista de sangue e baço, obtendo resultados satisfatórios, não tendo a registrar acidente algum.

Apezar de praticamente dominada a epizootia irrompida em 1939, ainda ocorrem alguns fócos esporadicos destacando-se particularmente 2 criações distantes mais de 100 kms. uma da outra, com cerca

de 1.000 cabeças cada uma. Por motivos alheios à nosa vontade, numa das criações suspenderam a aplicação de nossa vacina, enquanto na outra aplicaram uma vacina preparada por outro laboratório. Decorridos alguns meses, irrompeu em épocas diversas a peste, acometendo numa 350 e noutra 154 porcos. A aplicação imediata de sôro permitiu salvar varias centenas de animais. Esta circunstância nos proporcionou as seguintes verificações: a) Todos os porcos não vacinados, bem como os vacinados com a vacina B. H. (que consta em nosso gráfico n.º 5) adoeceram e morreram de peste, salvando-se apenas uma parte graças à aplicação do sôro hiperimune; b) todos os porcos vacinados em média entre 8 a 15 meses atrás com nossas vacinas (de sangue e de baço e ganglios) (*) resistiram perfeitamente ao contágio apezar do estreito e permanente contato que mantiveram com os animais doentes.

Em consequência, podemos admitir que, na prática, nossa vacina é eficiente; que a imunidade conferida dura pelo menos 12 meses; e, enfim, que a vacina provada com a denominação de B. H. mostrou-se completamente desprovida de poder antigênico.

A aplicação de nossa vacina, na prática, não nos deu igualmente oportunidade de observar acidentes, reações, reativações de infeções secundarias ou infeção no ponto de inoculação da vacina, apezar das pessimas condições de higiene e alimentação (restos de comida de hotel) em que eram mantidos os porcos.

## VACCINATION AGAINST HOG CHOLERA WITH A MIXED VACCINE, OF BLOOD AND SPLEEN TISSUE TREATED WITH CRYSTAL-VIOLET

*Abstract*

*I) Considering the inconveniences of the sero-therapy and simultaneous vaccination — serum and virus — we decided to start the combact to swine fever with a vaccine obtained from the spleen pulp and ganglions after treatment with crystal-violet during 14 days at 37°C, as described by the senior author in another publication:*

| | |
|---|---|
| *Spleen pulp and ganglions . . . . . .* | *100 cc.* |
| *Distilled water, fenicated at 0,75% . . . . .* | *200 cc.* |
| *Solution of crystal-violet at 1% . . . . .* | *15 cc.* |

*The immunity obtained by giving 10 cc. through muscular injection is solid and lasting and the antigenic properties of this type of vaccine are kept unchanged for at least three years. Unfortunately, the small number of dosis obtained from each pig rendered limited the pratical application of this vaccine.*

(*) Os porcos imunizados com nossa vacina eram sempre marcados na orelha afim de se poder controlar o gráu de resistência ou possiveis acidentes em qualquer época.

*II) We tried therefore a vaccine prepared by treating blood with crystal-violet according to the method of Dorset and arrived to the conclusions that under our working conditions, it is very difficult to obtain a sterile product for preservation.*

*As a matter of fact we have observed some accidents when it was applied even after satisfatory experimental tests.*

*Notwithstanding this, we insisted in further attempts and after laborious researches, we were able to prepare a blood vaccine which treated with crystal-violet during 14 days at 37°C have fitted the required condition:*

| | |
|---|---|
| *Desfibrinated blood . . . . . .* | *1000 cc.* |
| *Distilled water, glycerinated at 50% and phenicated at 0,2% . . . . . .* | *1000 cc.* |
| *Solution of crystal-violet at 1% . . . .* | *100 cc.* |

*III) Storage of this two types of vaccines presented some inconveniences from a practical point of view. Consequently they are mixed in the proportion of 4 parts of blood vaccine to one of spleen pulp vaccine resulting a single mixed vaccine, which has proved satisfactory in experimental and practical tests when given intramuscularly in the dose of 10 cc. Under such condition 170 to 200 dosis of this mixed vaccine can be obtained from each pig. On the basis of a few experiments we believed that the immunising dose might be still reduced to 5 cc. bringing out therefore a consequence of great practical and economic significance.*

*IV) After testing the sterility of the vaccine, the protection test is made on five pigs with a dose of 10 cc. through muscular injection. After 21 days, 2 cc. of virus are inoculated into each of these five pigs, to test their immunity.*

*The same dose of virus is simultaneously inoculated in 30 non-vaccinated pigs, which serve as control for the vaccinated group and at the same time as a source of the virus itself, which is used in the preparation of new batches of vaccine or for the immunisation of pigs in order to obtain hyperimmune serum.*

*After the resistance test, the vaccinated pigs are used in the preparation of the serum, no accidents having been observed during the hyperimmunization.*

*V) The application of these various types of vaccines on 14194 pigs corresponding to 110 foci of the disease, gave us the opportunity to verify a solid immunity against the natural infection.*

*This immunity has been found to last for more than 12 months.*

## BIBLIOGRAFIA


1 — Cole, C. G. and C. N. McBryde — 1941 — Experiments with crystal-violet vaccine for the prevention of hog-cholera. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 98: 454-457.

2 — De Blieck, L. and J. Jansen — 1939 — Immunization against swine fever. "In" *Vet. Bull.*, 11: 601.

3 — Edgington, B. H. and A. F. Schalk — 1939 — Some tests with crystal-violet vaccine for prevention of hog cholera. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 94: 501-508.

4 — Geiger, W. — 1938 — Trials of crystal-violet vaccine against swine-fever. "In" *Vet. Bull.*, 10: 839.

5 — Hupbauer, A. and I. Tomasec — 1937 — Immunization against swine fever by crystal-violet. "In" *Vet. Bull.*, 8: 364.

6 — Hupbauer, A. and V. Lugomer — 1940 — Immunization against swine fever by crystal-violet vaccine. "In" *Vet. Bull.*, 11: 763.

7 — McBryde, C. N. and C. G. Cole — 1936 — Crystal-violet vaccine for the prevention of hog-cholera: progress report. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 89: 652-663.

8 — Mongiardino, R. A. y A. Graf Hetze — 1941 — Algunos ensayos realizados con la vacuna "cristal violeta" para la prevención de la peste porcina. *Rev. Med. Vet.*, Buenos Aires, 23: 426-434.

9 — Munce, T. W. — 1937 — Experiments with crystal-violet hog cholera vaccine. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 90: 307-321.

10 — Office Vétérinaire Fédéral Suisse — 1937 — Essais d'immunization active contre la peste porcine. "In" *Bull. Off. Intern. Epiz.*, 15: 750-752.

11 — Penha, A. M. — 1940 — Vacinação na peste suina com pôlpa de baço tratada pelo cristal violeta. *Arq. Inst. Biologico*, São Paulo, 11: 339-346.

12 — Rubino, M. C. y A. Tortorella — 1938 — Informe sôbre la preparación de una vacuna contra la peste porcina. *Bol. Mens. Dirección Ganaderia*, Montevideo, 22: 352-360.

13 — Rubino, M. C. y A. Tortorella — 1940 — Vacuna al cristal violeta contra la peste porcina (2.º infórme de los trabajos realizados en la secion laboratorio de Biologia Animal). *Bol. Mens. Dirección Ganaderia*, Montevideo, 24: 396-407.

14 — Topacio, I. — 1939 — A method of immunization with crystal violet vaccine against hog-cholera. Preliminary report. "In" *Vet. Bull.*, 10: 513.

15 — U. S. Department of Agriculture. Bureau of Animal Industry — 1936 — New vaccines against hog-cholera. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 88: 111-113.

16 — U. S. Department of Agriculture. Bureau of Animal Industry — 1936 — Crystal violet vaccine for the prevention of hog cholera. *Vet. Med.*, 31: 433-434.

Vol. 13 — Art. 22 Dezembro de 1942

# NOTAS SOBRE A BIOLOGIA DA VESPA DE UGANDA "PROROPS NASUTA WATERST.", (HYM. BETHYL.) NO ESTADO DE S. PAULO - BRASIL

POR

A. A. de Toledo

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 4 figuras no texto

## INTRODUÇÃO

Em virtude da falta de informações mais detalhadas sobre a vida e hábitos da Vespa de Uganda, *P. nasuta* WATERST., depois de sua perfeita aclimação no Estado, e do sempre crescente interêsse que ela vem despertando de dia para dia entre os seus adeptos, inadiavel cada vez mais se fazia sentir a necessidade de um estudo mais aprofundado dêsse parasita.

Organizado o plano de trabalho cuja execução foi iniciada no laboratório em Novembro de 1938, e no campo em Setembro de 1939, visamos de preferência, além da biologia propriamente dita, a elucidação do comportamento do parasita, durante e após a safra, segundo o clima de cada região da vasta zona cafeeira do Estado.

Pesquisas idênticas e simultâneas, foram conduzidas em 16 lavouras de dez municípios diferentes do Estado. As conclusões dos trabalhos de campo baseiam-se nos resultados de exames mensais de material infestado pela broca, *Stephanoderes hampei* (FERR.), colhido na árvore e no chão, quando possível, e nos graus anuais de infestação geral das safras, levantados mensalmente desde Janeiro até a época da colheita.

O problema é tão complexo e influenciado por uma multiplicidade de fatores de tal ordem, que vários anos de pesquisas serão possivelmente necessários ainda, para que se chegue a uma conclusão definitiva quanto ao valor real do parasita no combate biológico à broca do café.

Agradecimentos são devidos aos Snrs. Candido de Morais e João de Oliveira, da Inspetoria Geral de Combate à Broca do Café em Campinas, aos Snrs. José Custodio de Oliveira, Arlindo Morais dos Santos, José M. Ferraz e Armênio C. Soares, pelo grande interêsse e eficiente cooperação no bom andamento dos trabalhos, e ao Snr. Jacob Bergamin pela execução dos gráficos.

## HISTÓRICO

A primeira referência a êste microhimenoptero em literatura entomológica, deve-se ao entomologista H. HARGREAVES, (3) que o constatou em 1921 parasitando a broca do café, *S. hampei* (FERR.), na África Oriental Inglesa. Em 1923, foi o parasita descrito por JAMES WATERSTON, (8) como espécie nova e primeiro representante de um gênero tambem novo, recebendo a nova espécie a denominação científica de *Prorops nasuta* WATERST.

A vista dos aspectos interessantes do parasita, HARGREAVES (4) procurou conhece-lo melhor, colhendo dados acerca de sua biologia e do seu possível valor econômico. Em 1928 êsse mesmo autor diz que devido ao aumento do parasita em Uganda, notou-se no seu campo experimental uma consequente redução dos danos causados pela broca.

Interessadissima em prestar aos cafeeicultores a maior assistência possível, na árdua tarefa de combater a broca por todos os meios conhecidos e aconselhaveis, sem perda de tempo a Diretoria do Instituto Biológico do Estado de S. Paulo, em 1929, deliberou a ida do técnico A. HEMPEL (7) à Uganda, com a incumbência de introduzir o parasita nas lavouras do Estado. 1.692 exemplares sobreviventes do parasita chegaram em Junho daquele mesmo ano aos laboratórios do Instituto Biológico, onde foram criados e posteriormente distribuidos pelas lavouras então infestadas pela broca. Nas lavouras do município de Campinas foram libertados em 5-2-1930, os primeiros exemplares da espécie (7).

Em Setembro daquele mesmo ano foi ainda o parasita instalado em várias lavouras, situadas dentro e fóra do município de Campinas.

Dado o vulto dos prejuizos causados pela broca, não é necessário grande esfôrço para bem se avaliar o interêsse que tão auspicioso acontecimento teria despertado entre os cafeeicultores.

Não foi, porém, levado em conta que os poucos exemplares libertados em cada lavoura nada representavam ante a densissima população de broca já existente; menos ainda, que se tratava de uma espécie de introdução recente, sujeita portanto a uma fase de adaptação às novas condições mesologicas. Deu-se o inevitavel: arrefeceram-se temporariamente o entusiasmo e as esperanças. Contudo, a adaptação do parasita se processava. Favorecido pela enorme população hospedeira e pelo clima, sua multiplicação dava-lhe vulto quasi comparavel ao da broca. Mais ou menos em 1933, uma constatação concreta dêste aumento se evidenciou. Dos frutos broqueados expostos ao sol esvoaçavam, além da broca, milhares de outros insetos, a Vespa de Uganda. Ressurgia assim o parasita, e com êle novas esperanças.

Uma vez aclimatado, o parasita voltou a merecer o conceito primitivo. As atenções novamente para êle se voltaram, dando-lhe azo de grande procura e larga difusão. Não há atualmente lavrador que, tendo constatado a presença da broca em sua lavoura, não se dirija pressurosamente à sede da Inspetoria Geral de Serviço de Combate à Broca do Café, em Campinas, à procura de alguns exemplares dêste parasita, e de instruções sobre a melhor maneira de o criar e distribuir na lavoura; não há, pois, com poucas exceções, rincão da lavoura cafeeira paulista, e mesmo de outras situadas fóra do Estado e invadidas pela broca, onde tambem a vespa não tenha sido introduzida.

## ADULTO

A *Prorops nasuta* WATERST., vulgarmente conhecida por vespa de Uganda, é um microhimenoptero, Bethylideo, inimigo natural da broca do café, *S. hampei* (FERR.).

O adulto é de côr escura quasi preta; pernas pardas; antenas compostas de 12 artículos e normalmente dirigidas para a frente; maxilas tridentadas e fortes; abdomen de formato aproximadamente fusiforme. As fêmeas, além do ovipositor curto, são tambem providas de aguilhão.

O tamanho é variavel, porém, aproximadamente de 2,5 mms. de comprimento por 3 de envergadura.

O macho difere da fêmea pelo seu porte menor e, morfologicamente, pelas antenas mais longas e extremidade abdominal menos ponteaguda.

Os sexos ocorrem geralmente na proporção de 25 machos para 75 fêmeas.

## LONGEVIDADE

A longevidade dos adultos submetidos a condições e alimentação diferentes variou sensivelmente, quer em relação às estações, quer em relação ao estádio evolutivo do hospedeiro, *Stephanoderes hampei* (FERR.) que lhe serviu de alimento.

Para se registrarem os efeitos dos fatores aqui considerados sobre a duração do parasita, vários lotes de indivíduos foram observados em épocas diversas; dêstes, uns foram alimentados exclusivamente com as formas imaturas; outros, somente com as formas adultas, e finalmente outros, com a broca em todos os estádios.

Os indivíduos dos lotes alimentados exclusivamente com larvas foram mantidos em células feitas da própria semente do café; os dos lotes alimentados com a broca em todos os estádios, foram mantidos

em frutos broqueados abertos transversalmente em duas partes, e os dos lotes que só se alimentaram de brocas adultas, em células de cortiça.

Com a aplicação da mesma técnica, observações idênticas foram conduzidas com lotes diferentes, na estação quente e na estação fria.

As observações efetuadas durante a estação quente foram iniciadas em Novembro de 1938, e se prolongaram até Fevereiro de 1939; as outras, a partir de Maio, até Setembro de 1939.

Como a longevidade média da maioria dos lotes se avizinhou sempre de 90 dias, para efeito comparativo apenas essa duração será aquí tomada como ponto de referência para a longevidade acusada pelos indivíduos da totalidade dos lotes.

Para o lote observado durante a estação mais quente e que só se alimentou das formas imaturas da broca: larvas e ninfas, foram verificadas uma longevidade máxima de 125 dias (tabela 1) e uma média de 96,3. Deste lote, 75% dos exemplares viveram mais de 110 dias.

Para o lote submetido a idêntico tratamento durante a estação fria, verificaram-se uma longevidade máxima de 155 dias para 4% dos indivíduos, e uma média geral de 90,5 dias. Dêste lote apenas 49,8% do total viveram mais de 90 dias.

Dos exemplares alimentados com a broca em todos os estádios, e observados somente durante a estação fria, 30% ultrapassaram 90 dias de vida, sendo a longevidade máxima registrada, de 124 dias, e a média, de 68,5.

Os exemplares mantidos com alimentação exclusiva de brocas adultas viveram relativamente pouco, porem, mesmo assim, foram registradas uma duração máxima de 82 e uma média de 58,3 dias.

Sem alimento, a vespa pode viver até o máximo de 11 dias, contados da data da abertura do casulo, e quatro depois de ter abandonado o fruto.

TABELA 1

Longevidade da *Prorops nasuta* WATERST. adulta em duas estações diferentes

| Épocas das observações | Alimento | Duração em dias | | | Porcentagem que viveu mais de 90 dias |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Max. | Min. | Média | |
| Nov. de 1938 a Fev. de 1939 | Larvas . . . | 125 | 26 | 96,3 | 75% |
| Maio a Outubro de 1939 . | Larvas . . . | 155 | 25 | 90,5 | 49,8% |
| Junho a Setembro de 1939 | Todos estádios | 124 | 23 | 68,5 | 30,0% |
| Out. de 1938 a Fev. de 1939 | Adultos . . . | 82 | 51 | 58,3 | — |
| Várias épocas . . . . . | *Nihil* . . . . | 11 | 7 | 10,0 | — |

Os machos, com ou sem alimento, com pequenas variações viveram tanto quanto as fêmeas submetidas ao jejum. A maior longevidade registrada para êste sexo foi de 13 dias. Ao que parece, êles não se alimentam.

## REPRODUÇÃO

A *Prorops nasuta* apresenta duas diferentes modalidades de reprodução: a normal e a partenogenética, isto é, com ou sem o concurso do macho. Quando a reprodução se dá por partenogenese, pelo fato de ser esta do tipo "arrhenotocuo", todos os descendentes são machos.

Por observações sucessivas constatamos que, quando a Vespa se reproduz inicialmente por partenogênese, ordinariamente logo depois de criada a prole de origem partenogenética, a progenitora é fecundada pelos seus próprios descendentes, e normalmente gera a seguir, uma segunda prole mixta ou composta exclusivamente de indivíduos femininos.

Há, todavia, fêmeas incapazes de reproduzir por partenogênese, mas que uma vez acasaladas procriam normalmente; a porcentagem destas é, porem, tão diminuta, que se torna desprezivel.

### CÓPULA

A cópula é de pequena duração (10 à 15 segundos) e dá-se geralmente a partir do segundo dia de estádio adulto da fêmea.

A não ser que a fêmea tenha inicialmente procreado por partenogênese, e só mais tarde tenha sido fecundada, a fecundação se dá normalmente durante o período de preoviposição, e, segundo parece, a fêmea é fecundada uma só vez em toda a sua existência, porquanto todas fecundadas na época normal, mesmo depois de terem procreado, repeliram sempre os indivíduos do sexo oposto.

Tanto as fêmeas como os machos de qualquer prole, depois de adultos ainda permanecem no interior do fruto por alguns dias, e, como os machos na maioria dos casos, são os últimos a abandona-lo podemos admitir como certo que a fecundação geralmente se dá dentro do fruto, antes da emergência das fêmeas.

Quando uma prole é composta exclusivamente de elementos masculinos, geralmente ela e a sua progenitora abandonam o fruto simultaneamente; quando, porem, a prole é mixta, verifica-se a emergência retardada dos machos.

Depois da sua emergência, os machos diferem quanto à longevidade: uns morrem no mesmo dia e outros atingem até 6 dias de vida livre. Estes podem, portanto, fecundar as fêmeas virgens encontradas em vôo ou alojadas em frutos broqueados.

Ocorrendo na natureza, segundo nossas observações, uma porcentagem de fêmeas que só geram proles femininas, sensivelmente maior do que a porcentagem das que só procriam machos, isto é, que se reproduzem por partenogênese, é perfeitamente cabivel que os machos de uma prole procurem as fêmeas virgens de outra, ou vice-versa.

Confrontando as porcentagens de fêmeas fecundadas com a das não fecundadas de um mesmo lote de parasita, quer seja êste obtido em condições de insetario, quer de material colhido depois de parasitado, portanto sujeito às leis naturais que regem a espécie, verificámos sempre grande analogia entre os resultados. Constatamos que as fêmeas não fecundadas representam em média 5,6% do total; e ainda mais, que das 94,4% fecundadas, 74,4% geram proles mixtas e as 20% restantes, proles constituidas exclusivamente de indivíduos femininos. Si não houvesse uma procura, talvez reciproca, dos sexos, a porcentagem de fêmeas não fecundadas seria forçosamente maior do que a das fêmeas que geram proles femininas, e que foram portanto fecundadas.

### PREOVIPOSIÇÃO

O período de preoviposição da Vespa é regido por um fator individual, e segundo parece, menos influenciado pelos fatores externos do que seria de esperar. Em qualquer lote de indivíduos, submetido a observação em igualdade de condições, há sempre variações bastante acentuadas.

Para as fêmeas fecundadas êsse período variou de 8 a 24 dias, com uma média geral de 18 dias. Entre fêmeas não fecundadas houve variações desde 8 até 39 dias.

### OVIPOSIÇÃO

Escolhido o fruto broqueado que reuna as condições exigidas, o parasita penetra pelo orifício aberto pela broca e começa imediatamente os trabalhos preliminares de sua instalação, que consistem no entorpecimento das larvas crescidas e no ataque às brocas adultas. As larvas entorpecidas cessam a sua evolução e conservam-se por longo tempo em perfeita condição de serem, à medida da necessidade, utilizadas pelo parasita, para efeito de postura. Esta é feita exclusivamente sobre as ninfas e larvas maduras, da broca.

A região do corpo do hospedeiro sobre a qual o parasita deita o ovo, não é indiferente: sobre ninfas, ordinariamente o ovo é posto obliquamente sobre a região dorso-abdominal delas; e longitudinalmente sobre a região ventral dos segmentos torácicos, quando a postura é feita sobre larvas.

Por observações feitas sobre Vespas mantidas em células construidas de semente de café, com renovação diária das larvas da broca e anotação do número de ovos, verificaram-se casos de postura diária e prolongada e, com maior frequência, casos de posturas em dias alternados.

Em geral, o parasita deita um ovo sobre cada larva, e excepcionalmente dois.

Observações idênticas foram realizadas: uma de Novembro de 1938 até Fevereiro de 1939, e outra a partir de Maio até Setembro de 1939. No primeiro caso as observações se processaram em um período de condições totalmente favoraveis à vida do parasita, o que se não verificou no segundo, cujas observações foram propositadamente feitas durante um período parcialmente frio e portanto desfavoravel. As posturas registradas no correr da estação quente foram: máxima 66, mínima 33, com uma média geral de 46 ovos, enquanto os resultados obtidos no correr da estação fria, foram: máxima 15, mínima zero, com a fraca média geral de 7,8 ovos por fêmea.

Do exposto se conclue que a capacidade ovipositora do parasita depende diretamente das condições de cada estação, evidenciando-se de modo destacado a influência da temperatura.

Com o fito de melhor precisar a influência dêste fator na capacidade ovipositora da Vespa, fizeram-se, a partir do mês de Março, até o de Agosto, inclusive, de 1939, durante 7 dias de cada mês, observações em condições as mais próximas possiveis das naturais, utilizando-se para cada observação mensal um lote de parasitas recem-nascidos. Dessas observações resultaram os dados da tabela 2.

TABELA 2

Postura média diária num período de 7 dias

| 1939 | Temp. média de 7 dias °C. | Ovos por fêmea |
|---|---|---|
| Março . . . . . | 24,9 | 1,8 |
| Abril . . . . . | 22,8 | 1,2 |
| Maio . . . . . | 21,9 | 0,8 |
| Junho . . . . . | 19,1 | 0,2 |
| Julho . . . . . | 16,4 | 0,0 |
| Agosto . . . . . | 18,6 | 0,2 |

Do lote submetido a observação no decurso do mês de Março (tab. 2), casos houve de indivíduos deitarem respectivamente 14, 16, 18 e 20 ovos em 7 dias, ao passo que, em igual período do mês de Julho do mesmo ano, não houve postura.

Conclue-se, portanto, que em condições naturais, desde que estas sejam favoraveis, o parasita pode superar todos os recordes verificados em laboratório, relativamente à sua capacidade ovipositora, e outrossim, que a influência da temperatura na capacidade reprodutiva é bastante acentuada.

Durante os últimos 20 a 25 dias de vida, a Vespa mostra-se fraca poedeira, e a postura é feita com intervalos muito variaveis.

### ovo

O ovo é de côr esbranquiçada; mais ou menos translúcido; de formato alongado; um tanto curvo, com os polos obtusos; mede em média 177 por 468 micra; é esculturado e normalmente da mesma côr até a eclosão.

A eclosão se dá por fragmentação do cório, o qual embora subdividido continúa aderente ao corpo da larva até que esta mude de pele.

O período de incubação varia de 2 a 7 dias, segundo a temperatura, porem nos meses de temperatura elevada fica entre 2 e 4 dias.

### LARVAS E SEUS HÁBITOS

A larva é da mesma côr do ovo e da larva do hospedeiro; é de crescimento rápido e muda de pele 3 vezes, sendo duas durante o período de alimentação, e uma na passagem do período prepupal ao pupal.

Depois de completamente crescida, é aproximadamente fusiforme, visivelmente segmentada, e mede em média 580 por 1550 micra.

A larva recem-nascida conserva sobre o hospedeiro a mesma posição anteriormente ocupada pelo ovo; perfura o tegumento do hospedeiro, introduz no corpo dele cerca de 1/3 do seu comprimento, e alimenta-se por sucção. A absorção total do conteúdo do hospedeiro dá-se no prazo de 3 a 4 dias; com exceção da pele e da cápsula cefálica do hospedeiro, tudo mais é devorado.

O casulo é branco sedoso, alongado, com as extremidades arredondadas.

### PREPUPA E NINFA

Depois de um curto estádio prepupal tem início o pupal, geralmente três vezes mais longo do que o precedente.

Inicialmente a ninfa tem a mesma côr das formas mais jovens, mas com o seu progresso evolutivo, essa côr vai gradativamente escurecendo, até que, nos últimos dias, tem a côr escura definitiva da forma adulta.

Lotes de larvas observados em ambiente cuja temperatura média, foi, num caso, de 24° C., e em outro, de 18° C., requereram para a sua evolução, no primeiro caso 20 dias, e no segundo 59.

A duração de cada fase evolutiva a uma temperatura média de 24° C., teve os limites constantes da tabela 3.

TABELA 3

Duração da fase evolutiva de cada estádio imaturo da *Prorops nasuta*, a uma temperatura média de 24° C.

| | |
|---|---|
| Crescimento larval . . . . . | 4 dias |
| Período compreendido entre o crescimento e tecelagem do casulo, inclusive . . . . . | 4 dias |
| Período prepupal . . . . . | 3 dias |
| Período ninfal . . . . . | 9 dias |
| Período total . . . . . | 20 dias |

PROGENIE

Sabendo-se que a Vespa pode viver em média cerca de 90 dias, e outrossim, que a sua capacidade ovipositora é elevada, e ainda mais, que ela pode gerar de uma a duas proles, seria interessante alguma informação quanto à prole total.

Pelas observações conduzidas em condições de cativeiro, verificámos, para as duas gerações, uma progenie máxima de 30 exemplares por fêmea e uma média de 16, ou sejam 8 por geração.

Pela contagem dos casulos encontrados em frutos nos quais a Vespa se reproduziu no campo, constatámos um número médio de 7 casulos por fruto; como o parasita só pode gerar uma prole por fruto, seriam portanto necessários dois frutos para as suas duas proles, donde se conclue que, na natureza ou em insetário, o parasita, na peior das hipoteses, pode gerar em média 7 indivíduos por fruto, ou sejam 14 ao todo.

GERAÇÕES

Observações sobre o número de gerações anuais do parasita, em insetário, iniciadas em Março de 1939, e prolongadas até Março de 1940, acusaram um total de 9 gerações.

TABELA 4

Gerações anuais da *Prorops nasuta* WATERST.

| Gerações | Período evolutivo | Temp. ° C. | Duração em dias |
|---|---|---|---|
| 1 | 21-3-939 a 28-4-939 | 23,2 | 38 |
| 2 | 28-4-939 a 15-6-939 | 19,7 | 48 |
| 3 | 15-6-939 a 20-8-939 | 18,0 | 66 |
| 4 | 20-8-939 a 8-10-939 | 21,0 | 49 |
| 5 | 8-10-939 a 8-11-939 | 24,7 | 30 |
| 6 | 8-11-939 a 10-12-939 | 24,0 | 32 |
| 7 | 10-12-939 a 9-1-940 | 24,1 | 30 |
| 8 | 9-1-940 a 7-2-940 | 24,8 | 29 |
| 9 | 7-2-940 a 9-3-940 | 24,5 | 31 |

O tempo requerido para cada geração foi em todos os casos estimado pela contagem dos dias decorridos entre a emergência de um exemplar e a dos seus descendentes.

Para boa marcha das observações e certeza dos resultados, decorrido o tempo necessário para a postura (10 a 15 dias), os frutos eram abertos e o adulto eliminado.

O tempo necessário para evolução de cada geração (tabela 4) variou amplamente, em relação com a temperatura.

## HÁBITOS DO ADULTO

Terminada a sua evolução larval, o adulto rompe o casulo em uma das extremidades, porem não o abandona no mesmo dia, permanecendo encasulado às vezes até três dias.

Quanto à hora da emergência, há certa diferença habitual entre os sexos; os machos abandonam os frutos geralmente no período da manhã, entre 8 e 9 horas; as fêmeas, ao contrário, preferem as horas mais quentes, e só se mostram bastante ativas no período compreendido entre 10 e 15 horas, mais ou menos.

Nos dias nublados a emergência é rarissima. Em ambiente de temperatura acima de 22° C o parasita alça vôo com relativa facilidade, o que não se verifica quando a temperatura é inferior a 20° C. A extensão coberta por cada vôo não é conhecida, mas, baseados na facil difusão da espécie nas lavouras infestadas, podemos considera-la satisfatória.

Uma vez instalado no fruto broqueado, o parasita aí permanece até que a sua prole atinja o estádio adulto.

Dentre as interessantes particularidades biológicas da espécie, merece especial menção o seu hábito mais ou menos generalizado de obturar o orifício de entrada do fruto em que se aloja. Êle mata a broca adulta e conserva-a servindo de tampão durante a sua permanência no interior do fruto. Alem de o fechar bem, e talvez para maior garantia dos seus ovos ou larvas, a Vespa conserva-se sempre junto ao orifício obturado. Êsse hábito do parasita se verifica para cerca de 90% dos frutos "vespados", e só é observado nos frutos cujas condições se prestam à procreação. Caso os frutos visitados sejam de infestação mais ou menos recente pela broca, e, portanto, o estádio das larvas não seja o preferido pelo parasita, êste, alimentando-se da broca adulta e larvas recem-nascidas, convive com as larvas restantes, sem molesta-las, até que elas atinjam o estádio de sua preferência, para então iniciar a postura.

Embora se encontre a vespa procreando sobre as larvas da broca alojadas em frutos verdoengos, maduros e sêcos, a sua predileção pelos

frutos broqueados sêcos e melosos é bastante pronunciada vindo em segundo lugar os frutos maduros, e em último os verdoengos.

Num total de 5.481 frutos verdoengos broqueados, colhidos em parcelas mensais, a partir de Janeiro de 1940, foram encontradas as seguintes porcentagens parasitadas: frutos só com vespa adulta 0,36%; com vespa e respectivas larvas 0,05%; parasitismo total 0,41%.

Em 5.644 frutos maduros: frutos com vespa adulta 1,9%; frutos com vespas e larvas 0,28%; parasitismo total 2,18%.

Em 5.314 frutos sêcos e melosos: com vespa 4,6%; com vespa e larvas 1,4%; parasitismo total 6,0%.

O parasitismo total verificado nos frutos verdoengos, maduros e melosos, segundo nossas observações, ocorreu na proporção de 1 : 5 : 15. A procreação do parasita nessas três categorias de frutos foi constatada na proporção de: 1 : 7 : 28. A predileção do parasita pelos frutos menos úmidos é portanto bem pronunciada. Entre frutos broqueados pendentes e caídos, o parasita se aloja de preferência nos primeiros.

Outro ponto tambem interessante é o referente ao comportamento da vespa no interior do fruto, perante todos os estádios da broca.

Como tentativa de esclarecimentos desta parte, tomou-se certa quantidade de frutos broqueados e em cada um deles se colocou, uma vespa sob campânula. Para evitar que entrassem no computo frutos que não reunissem as condições exigidas, no dia seguinte a seleção foi feita pelo exame do orifício de penetração, separando todos os que o parasita houvesse obturado. Feita essa seleção do material, procedeu-se daí por diante ao exame parcelado do lote, dias seguidos, até que o exame revelasse completo extermínio da broca e de suas larvas.

Para que se tivesse um ponto de referência, pelo qual fosse possível avaliar o trabalho destrutivo do parasita, antes da "vespação" dos frutos, determinou-se o seu teor médio em ovos, larvas, ninfas e brocas adultas por fruto. Sendo as parcelas a serem examinadas compostas de 10 frutos, as médias encontradas para os diferentes estádios da broca num elevado número de frutos foram tambem multiplicados por 10, resultando dessas multiplicações os produtos registrados na primeira linha da tabela 5, a saber: 69 brocas adultas, 45 ovos, 43 ninfas, 26 larvas maduras, 33 médias e 46 recem-nascidas, total, 262.

No dia 20, isto é, dois dias depois da infestação, foi examinada a primeira parcela de dez frutos "vespados", cujos resultados podem ser apreciados na segunda linha da tabela 5, correspondente à data do exame; são eles: 4 brocas adultas vivas e 58 mortas pelo parasita, e destas 45,5% já decapitadas e devoradas; vivos: 6 ovos, 7 ninfas, 10

## TABELA 5

Comportamento da vespa perante os diversos estádios da broca no interior do fruto

| Data dos exames | Frutos examinados | Broca | | | | | | | | | | Vespa | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Adultos | | | Larvas entorpecidas | | Ovos | Larvas vivas | | | | Sobreviventes | | | | |
| | | Vivos | Mortos | Destruidos % | Ninfas | Larvas | | Ninfas | Larvas crescidas | Larvas médias | Larvas novas | | Ovos | Larvas | Casulos | Adultos |
| 18-3-39 . . . | 10 | 69 | 0 | 0,0 | — | — | 45 | 43 | 26 | 33 | 46 | 262 | — | — | — | — |
| 20-3-39 . . . | 10 | 4 | 58 | 45,5 | 29 | 12 | 6 | 7 | 10 | 17 | 52 | 96 | 5 | — | — | — |
| 21-3-39 . . . | 10 | 6 | 70 | 40,7 | 48 | 29 | 11 | 1 | 2 | 5 | 27 | 52 | 30 | — | — | — |
| 22-3-39 . . . | 10 | 3 | 64 | 64,1 | 62 | 51 | 2 | 2 | 7 | 18 | 23 | 55 | 53 | — | — | — |
| 23-3-39 . . . | 10 | 2 | 57 | 59,3 | 56 | 58 | 1 | 0 | 7 | 3 | 4 | 17 | 51 | 12 | — | — |
| 24-3-39 . . . | 10 | 0 | 31 | 80,6 | 40 | 69 | — | 1 | 7 | 3 | 6 | 17 | 60 | 24 | — | — |
| 25-3-39 . . . | 10 | 0 | 32 | 78,1 | 36 | 65 | — | — | — | 1 | 3 | 4 | 39 | 47 | — | — |
| 27-3-39 . . . | 10 | 0 | 41 | 87,8 | 10 | 37 | — | — | — | — | — | 0 | 5 | 83 | 1 | — |
| 30-3-39 . . | 10 | 0 | 35 | 85,7 | 13 | 31 | — | — | — | 1 | 2 | 3 | 10 | 57 | 67 | — |
| 3-4-39 . . . | 10 | 0 | 10 | 100 | 2 | 22 | — | — | — | — | — | 0 | — | 56 | 60 | — |
| 5-4-39 . . . | 10 | 0 | 46 | — | 2 | 1 | — | — | — | — | 7 | 7 | — | 6 | 64 | — |
| 8-4-39 . . . | 10 | 0 | 91 | — | — | — | — | — | — | — | — | 0 | — | — | 105 | — |
| 22-4 a 2-5-39 | 10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 0 | — | — | — | 63 |

larvas maduras, 17 médias e 52 recem-nascidas; entorpecidas: 29 ninfas e 12 larvas maduras, das quais 5 já parasitadas, isto é, já ostentando ovos do parasita.

Analisando-se os dados da tabela correspondentes às datas dos exames posteriores, nota-se que o extermínio total das brocas adultas se verificou no sexto dia, e outrossim, que por eclosão ou outro processo, tambem os ovos foram eliminados.

No dia 25, isto é, no sétimo, tambem o entorpecimento das larvas e ninfas subiu a 100%.

As larvas médias subsistiram até o dia 30 de Março e as mais novas até o dia 5 de Abril.

E' tambem interessante notar na coluna de "sobreviventes" o rápido declínio do número de indivíduos vivos acusado pelo exame de cada parcela de 10 frutos, em relação ao total médio encontrado nos 10 frutos testemunhas. Tomando-se por base o total inicial de 262 brocas em diversos estádios, o número de parasita por fruto e o total das 10 proles, concluimos que, pelo menos neste caso, cada parasita destruiu em média 26,2 brocas e procreou 6,3 novos indivíduos.

Em suma, a destruição total se verificou no 18.° dia, sob uma temperatura que oscilou entre 20 e 28°,5 C. com uma média de 23°,7 C.

O ataque do parasita foi, como se vê, extensivo a todos os estádios da broca, porem inicialmente menos intenso com relação às formas mais jovens. Não foi constatado um caso siquer de entorpecimento de larvas em idade de crescimento, porem notámos sempre que todas elas vão sendo entorpecidas à medida que se aproximam do estádio prepupal.

Para a sua alimentação individual o parasita progenitor recorre de preferência às formas adultas, às larvas recem-nascidas e mais raramente às ninfas, enquanto as demais formas são em regra destinadas à alimentação de suas próprias larvas.

O entorpecimento das formas adultas pelo parasita se dá quasi sem resistência por parte delas; o parasita prende a vítima com as patas, colocando-se em posição transversal sobre ela, e valendo-se da grande mobilidade do seu abdomen, vai tacteando a presa com a extremidade dele até encontrar uma região membranosa e portanto menos resistente, onde dá a picada. A região mais comumente atingida é a ligação da cabeça ao torax, porem, há casos da vítima ser atingida em plena cavidade bucal.

A segunda parte da tabela 5, corresponde à oviposição do parasita e evolução de suas larvas, mostra, embora aproximadamente, a duração de cada fase evolutiva até a emergência dos adultos.

Pelo exame dessa parte da tabela, nota-se que a postura foi iniciada no correr do segundo para o terceiro dia de estada do parasita no fruto, visto que, no dia 20 de Março, pela manhã, foram encontrados 5 ovos; as primeiras larvas apareceram no dia 23, portanto 3 dias depois dos primeiros ovos; e o primeiro casulo, no dia 27, isto é, 4 dias depois da aparição das primeiras larvas, e finalmente os primeiros adultos a 22 de Abril, ou sejam 26 dias depois da constatação do primeiro casulo. Pela adição desses vários períodos, obtem-se o total de 33 dias decorridos entre as datas de aparecimento do primeiro ovo e do primeiro adulto.

A tabela mostra ainda, e de maneira bem clara, que a postura máxima se verificou a 24/3, ou sejam 6 dias após o alojamento da vespa. A totalidade das larvas bem crescidas encontradas em cada parcela de 10 frutos, examinada desse dia em diante, era portadora de ovos do parasita, tendo, portanto, o parasitismo das larvas e ninfas atingido 100% no curto prazo de 6 dias.

Embora o parasita aniquile totalmente as populações dos frutos visitados, para as suas proprias necessidades êle relativamente pouco requer. Observações sobre a quantidade de alimento consumido por fêmea durante o seu ciclo vital, em épocas diversas, revelaram que uma larva da broca constitue-lhe alimento suficiente para um período de 6,9 dias em média, e outrossim, que ela é mais voraz durante o período de preoviposição.

Algumas tentativas de manutenção da Vespa com outras espécies de Ipideos comuns nas canas do milho, pelo menos nas condições de cativeiro, foram positivas: tanto as larvas como os adultos de espécie foram devorados pela Vespa. Constatado mais êsse comportamento do parasita, procuramos certificar-nos si êle constituia um hábito normal, porem negativos foram todos os exames procedidos em material de milho cultivado em lavouras bem povoadas pelo parasita.

## A VESPA EM CONDIÇÕES NATURAIS. FATORES QUE MAIS DIRETAMENTE INFLUEM NA DENSIDADE DE SUA POPULAÇÃO

A grandeza da população de um parasita específico, depende alem de outros fatores, intimamente das oscilações da densidade da população, hábitos, etc., do hospedeiro em cada ciclo anual; é natural, portanto, que a população da Vespa de Uganda se enquadre nesse princípio e oscile segundo as características de certos fatores, tais como: colheita, estações do ano, e situação geográfica de cada zona cafeeira, que por sua vez controlam a densidade da população da broca.

Vejamos, pois, como o efeito desses fatores, atuando sobre certos hábitos da broca, repercutem na densidade da população do parasita.

RESUMO DAS OBSERVAÇÕES DE 1939, 1940 e 1941

fornecido pelo Instituto Regional de Meteorologia M. A. — São Paulo

| Ano | Meses | Chuva | | | | Temperatura média do ar | | | | Umidade relativa do ar | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Caçapava | Agudos | Campinas | Catanduva | Caçapava | Agudos | Campinas | Catanduva | Caçapava | Agudos | Campinas | Catanduva |
| 1939 | Janeiro | 285,9 | 186,2 | 307,6 | 141,1 | 22,6 | 22,7 | 22,7 | 24,6 | 79 | 75 | 80 | 80 |
| | Fevereiro | 180,2 | 48,0 | 161,7 | 81,6 | 23,4 | 22,7 | 23,4 | 24,7 | 74 | 76 | 76 | 75 |
| | Março | 185,5 | 65,2 | 148,1 | 96,6 | 23,4 | 22,8 | 23,6 | 25,4 | 74 | 76 | 75 | 73 |
| | Abril | 54,8 | 17,2 | 34,3 | 25,2 | 20,9 | 19,7 | 21,1 | 22,8 | 78 | 78 | 75 | 77 |
| | Maio | 46,8 | 119,6 | 113,9 | 172,2 | 19,6 | 17,8 | 19,5 | 21,2 | 79 | 79 | 77 | 76 |
| | Junho | 15,8 | 206,4 | 76,8 | 67,3 | 16,9 | 14,8 | 16,9 | 18,4 | 75 | 77 | 75 | 76 |
| | Julho | 24,1 | 21,1 | 27,8 | 18,1 | 15,2 | 13,7 | 15,3 | 16,5 | 74 | 76 | 72 | 72 |
| | Agosto | 4,1 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 18,0 | 17,1 | 19,0 | 20,9 | 66 | 71 | 58 | 57 |
| | Setembro | 24,8 | 28,8 | 25,6 | 9,2 | 18,8 | 18,5 | 19,4 | 21,5 | 72 | 68 | 67 | 67 |
| | Outubro | 23,9 | 72,0 | 30,6 | 71,6 | 21,0 | 21,3 | 22,2 | 24,0 | 65 | 65 | 58 | 64 |
| | Novembro | 133,0 | 170,9 | 204,8 | 194,2 | 21,7 | 22,1 | 21,9 | 23,7 | 77 | 72 | 76 | 79 |
| | Dezembro | 135,1 | 118,1 | 206,5 | 179,2 | 22,1 | 22,5 | 22,2 | 23,3 | 80 | 75 | 80 | 81 |
| | Ano | 1.124,0 | 1.053,5 | 1.336,9 | 1.056,5 | 20,3 | 19,6 | 20,6 | 22,3 | 74 | 74 | 72 | 73 |
| 1940 | Janeiro | 195,3 | 264,9 | 247,1 | 356,5 | 23,6 | 23,2 | 23,3 | 24,4 | 77 | 78 | 79 | 81 |
| | Fevereiro | 340,6 | 211,0 | 383,7 | 237,5 | 22,2 | 21,5 | 21,8 | 23,2 | 82 | 81 | 83 | 85 |
| | Março | 167,6 | 94,5 | 129,8 | 84,5 | — | 22,7 | 23,5 | 25,0 | — | 76 | 74 | 77 |
| | Abril | 17,5 | 48,5 | 30,7 | 37,1 | 22,6 | 20,9 | 22,2 | 23,5 | 75 | 80 | 75 | 76 |
| | Maio | 13,6 | 11,5 | 37,7 | 17,2 | 19,9 | 18,6 | 19,9 | 22,1 | 74 | 78 | 74 | 74 |
| | Junho | 0,4 | 0,0 | 25,4 | 0,0 | 17,4 | 16,4 | 18,2 | 20,1 | 75 | 76 | 71 | 67 |
| | Julho | 3,6 | 0,0 | 1,6 | 0,0 | 18,0 | 17,0 | 18,9 | 21,4 | 69 | 74 | 63 | 61 |
| | Agosto | 20,2 | 52,8 | 0,8 | 4,0 | 18,9 | 18,0 | 19,7 | 22,4 | 68 | 71 | 60 | 57 |
| | Setembro | 51,6 | 9,6 | 27,8 | 10,8 | 19,7 | 19,2 | 19,5 | 23,8 | 67 | 70 | 61 | 55 |
| | Outubro | 78,8 | 109,3 | 91,3 | 124,6 | 20,9 | 21,4 | 20,9 | 24,4 | 73 | 69 | 67 | 65 |
| | Novembro | 214,8 | — | 171,4 | 213,8 | 21,8 | — | 21,7 | 23,9 | 77 | — | 75 | 79 |
| | Dezembro | 159,9 | — | 147,0 | 116,4 | 25,3 | — | 25,0 | 25,5 | 71 | — | 74 | 79 |
| | Ano | 1.263,9 | 801,6 | 1.344,3 | 1.202,4 | 20,9 | 19,9 | 21,2 | 23,3 | 73 | 75 | 71 | 71 |
| 1941 | Janeiro | 161,1 | — | 206,2 | 162,9 | 24,0 | — | 24,0 | 24,6 | 78 | — | 76 | 82 |
| | Fevereiro | 172,9 | — | 115,7 | 13,0 | 24,6 | — | 24,1 | 25,5 | 74 | — | 74 | 78 |
| | Março | 119,7 | — | 99,8 | 103,3 | 22,7 | — | 22,7 | 24,3 | 79 | — | 75 | 78 |
| | Abril | 65,2 | — | 16,3 | 8,0 | 22,9 | — | 23,0 | 24,7 | 76 | — | 71 | 74 |
| | Maio | 31,3 | — | 21,8 | 3,0 | 19,9 | — | 20,1 | 21,8 | 74 | — | 69 | 69 |
| | Junho | 31,8 | — | 45,4 | 0,0 | 16,7 | — | 17,3 | 20,0 | 75 | — | 69 | 63 |
| | Julho | 27,0 | — | 18,5 | 27,2 | 16,7 | — | 16,7 | 19,1 | 76 | — | 71 | 71 |
| | Agosto | 2,4 | — | 16,0 | 0,0 | 20,1 | — | 20,2 | 23,0 | 69 | — | 66 | 60 |
| | Setembro | 203,3 | — | 184,1 | 146,2 | 16,7 | — | 16,6 | 18,9 | 82 | — | 80 | 78 |
| | Outubro | 148,5 | — | 168,4 | 42,8 | 19,9 | — | 20,1 | 23,2 | 76 | — | 70 | 67 |
| | Novembro | 126,1 | — | 241,3 | 286,9 | 22,2 | — | 21,7 | 23,9 | 76 | — | 76 | 81 |
| | Dezembro | 187,9 | — | 432,2 | 108,1 | 22,3 | — | 21,6 | 23,8 | 79 | — | 80 | 81 |
| | Ano | 1.277,2 | — | 1.565,7 | 901,4 | 20,7 | — | 20,7 | 22,7 | 76 | — | 73 | 73 |

Quanto aos efeitos da colheita, é fato sabido que esta reduz a população da broca, anualmente, a baixo nivel, porquanto a praga é retirada da lavoura na mesma proporção que o são os frutos broqueados.

Quanto aos outros fatores citados, êstes se resumem em um único: clima. Em regra, durante o primeiro semestre de cada ano, as condições meteorológicas são aproximadamente as mesmas em quasi todas as zonas cafeeiras do Estado, não havendo, portanto, variações sensiveis de condições locais ou regionais, que possam nitidamente distinguir o clima de certa região e os seus efeitos na biologia da praga; o mesmo porem não se dá durante o segundo semestre, quando a população se acha reduzida pelos efeitos da colheita.

Durante êste período verificam-se geralmente longas estiagens, que variam de intensidade segundo a situação geográfica de cada região da vasta zona cafeeira do Estado, e, portanto, os seus efeitos na vitalidade dos cafeeiros e da broca.

Pelas nossas observações, iniciadas no campo em Setembro de 1939, e continuadas durante os anos de 1940, 1941 e 1942, verificámos que os efeitos das grandes sêcas ocorridas em 39 e 40, sobre a vida e proliferação da broca, foram menos acentuados nas regiões cafeeiras situadas a partir das imediações do paralelo geográfico 23° para o Sul, do que nas regiões situadas ao Norte do referido paralelo.

Nas regiões influenciadas pela altitude, latitude ou pela proximidade do oceano, a umidade relativa do ar, mesmo durante o estio, é em geral elevada, e portanto favoravel à proliferação da broca, tanto nos frutos caídos como nos pendentes. Nas regiões não sujeitas à influência de qualquer desses fatores, a carência de umidade, principalmente nos frutos pendentes, cria nestes condições tão desfavoraveis à vida da broca, que ela os abandona e se abriga nos frutos caídos e sombreados, durante o tempo que perdurar a sêca.

Acontece, ainda, que nas regiões mais úmidas a frutificação dos cafeeiros não se dá somente nas épocas normais, sendo aí, frequentes, portanto, os frutos temporões, escassos nas regiões sêcas cujos cafezais frutificam em períodos regulares.

Material 100% infestado procedente de duas lavouras situadas no litoral, uma em Guarujá (Santos), e outra em Registro (Iguape), durante o período de estiagem, acusou nunca menos de 50% de frutos com brocas em todos os estádios, fato rarissimamente constatado em material colhido em lavouras situadas no interior do Estado, mesmo durante os meses de condições as mais propícias à vida da broca. As condições climatéricas reinantes na região litoranea são, portanto, muito favoraveis à broca de Janeiro a Dezembro. Na região de Baurú,

os fatos se passam de modo bem diverso; se no decurso do ano agrícola a broca conta com uma fase inicial favoravel, conta tambem com outra de condições adversas.

Os dados constantes da tabela 6 mostram que durante os meses de umidade ainda favoravel (Julho-Agosto), as porcentagens de frutos com broca viva encontradas em material 100% broqueado, foram maiores com relação aos frutos pendentes, e outrossim, que essas porcentagens caíram a zero no correr dos meses de Setembro e Outubro, e que aumentaram a partir do mês de Novembro, ou seja algum tempo depois das primeiras chuvas.

TABELA 6

Comportamento da broca durante o estio em zona de clima menos favoravel — Baurú

| 1940 | Frutos broqueados examinados | | Porcentagem de frutos com broca viva | | | | | | Porcentagem de frutos c/ vespas | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Adultos | | Adultos e larvas | | Adultos média p/ fruto | | | |
| | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão |
| Julho . . . . | 400 | 393 | 65,6 | 51,5 | 6,0 | 4,5 | 4,1 | 2,3 | 2,7 | 1,4 |
| Agosto . . . | 400 | 400 | 64,7 | 43,2 | 3,8 | 3,2 | 3,3 | 4,5 | 2,0 | 0,2 |
| Setembro . . | 400 | 400 | 0,5 | 24.2 | 0,0 | 1,8 | 1,0 | 4,6 | 2,7 | 1,4 |
| Outubro . . . | 400 | 400 | 0,0 | 20,4 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 9,6 | 0,0 | 0,0 |
| Novembro . . | 400 | 265 | 15,0 | 12,0 | 0,0 | 0,7 | 1,1 | 1,7 | 0,2 | 0,0 |
| Dezembro . | 406 | 290 | 16,0 | 3,1 | 5,4 | 2,4 | 2,5 | 3,0 | 0,0 | 0,0 |

Relativamente às porcentagens de frutos broqueados com broca viva, encontradas entre os frutos caídos e abrigados pela sombra do cafeeiro, notámos que essas porcentagens, embora em ordem decrescente, revelaram a presença da broca nessa situação durante todos os meses de estiagem, e outrossim, que depois de iniciado o retorno da broca aos frutos pendentes, elas decresceram de modo mais pronunciado. Notamos ainda, pela contagem de indivíduos por fruto, que a diminuição deles, verificada nos frutos pendentes durante o estio, foi sempre compensada por um correspondente aumento nos frutos caídos. Em Outubro, por exemplo, a média nos frutos pendentes foi nula, enquanto subiu para 9,6 nos frutos caídos e abrigados do sol.

As porcentagens de frutos infestados com broca e respectivas larvas, foram sempre fracas ou nulas durante os meses citados, tanto nos frutos pendentes como nos caídos. Não podendo a vespa prescindir do elemento larva, para a sua reprodução, era natural que acontecesse o que nos revelam os dados: o quasi extermínio do parasita em

Baurú, enquanto a broca, que lograra sobreviver às más condições, reiniciou em Dezembro a sua proliferação.

Pela análise da tabela 7 e confronto dos seus dados com os da tabela 6, notamos mais, que o comportamento da broca na região de Bragança, não apresentou nenhum dos extremos verificados na região cafeeira de Baurú. As porcentagens de frutos encontrados quer com brocas adultas apenas, quer com adultas e respectivas larvas, na árvore ou no chão, foram sempre baixas, porem coexistentes. Quanto às médias de indivíduos por fruto, com exceção da correspondente ao mês de Setembro, foram sempre maiores nos frutos pendentes.

TABELA 7

Comportamento da broca durante o estio em zona de clima mais favoravel — Bragança

| 1940 | Frutos broqueados examinados | | Porcentagem de frutos com broca viva | | | | | | Porcentagem de frutos c/ vespas | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Adultos | | Adultos e larvas | | Adultos média p/ fruto | | | |
| | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão | Árvore | Chão |
| Agosto . . . | 400 | 400 | 46,0 | 24,6 | 11,2 | 6,2 | 4,0 | 2,3 | 1,2 | 3,6 |
| Setembro . . | 400 | 400 | 9,4 | 21,0 | 0,0 | 1,6 | 2,0 | 4,4 | 13,7 | 1,4 |
| Outubro . . . | 400 | 400 | 2,0 | 4,0 | 0,4 | 0,2 | 3,1 | 2,5 | 3,4 | 0,2 |
| Novembro . . | 400 | 400 | 8,4 | 6,0 | 3,2 | 1,0 | 2,7 | 2,1 | 3,9 | 2,2 |
| Dezembro . . | 390 | 109 | 15,5 | 3,3 | 3,0 | 1,8 | 2,4 | 1,6 | 2,1 | 0,8 |

Do fato da broca poder procriar ininterruptamente nos frutos pendentes em certas regiões, e em outras não, resulta que nas primeiras a vespa dispõe, em qualquer época e dentro do seu raio de ação, isto é, na árvore, de frutos com larvas da broca, que lhe asseguram maior ciclo vital e proliferação tambem ininterrupta, e que nas outras, dada a escassez de frutos broqueados com larvas, êle é forçado a uma simples ação de predador das formas adultas da broca, em detrimento de sua longevidade, proliferação e consequentemente da densidade de sua população.

Nos gráficos (figs. 1, 2, 3 e 4) traçados segundo os dados resultantes dos exames mensais, de material infestado procedente de quatro regiões de situação geográfica diferente do Estado: Caçapava, Agudos, Campinas e Catanduva, mais ainda se salienta a influência exercida pelo clima na vida da broca, durante cada semestre dos anos de 1939, 40 e 41, e a sua repercução na população da Vespa. Embora uma análise rápida dos quatro gráficos faça ressaltar preliminarmente grande semelhança evolutiva das respectivas linhas correspondentes a cada um dos fatos representados, há elementos que permitem apreciar

**Variações periódicas** das porcentagens de frutos broqueados, povoados pela broca *S. hampei* (FERR.) em todos os estádios; das porcentagens com adultos e respectivas larvas, e das porcentagens com brocas parasitadas, segundo as variações meteorologicas havidas

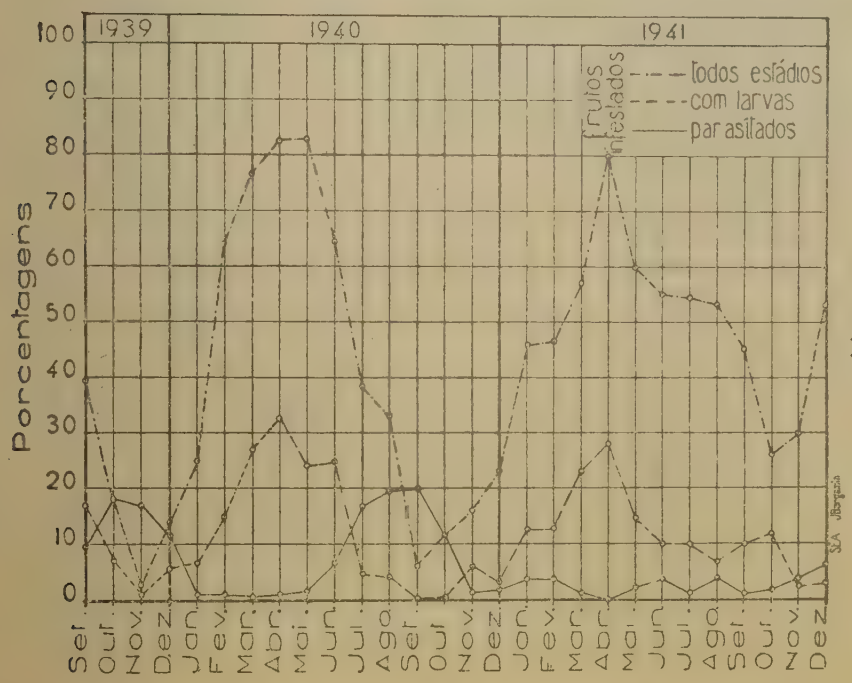



Fig. 1

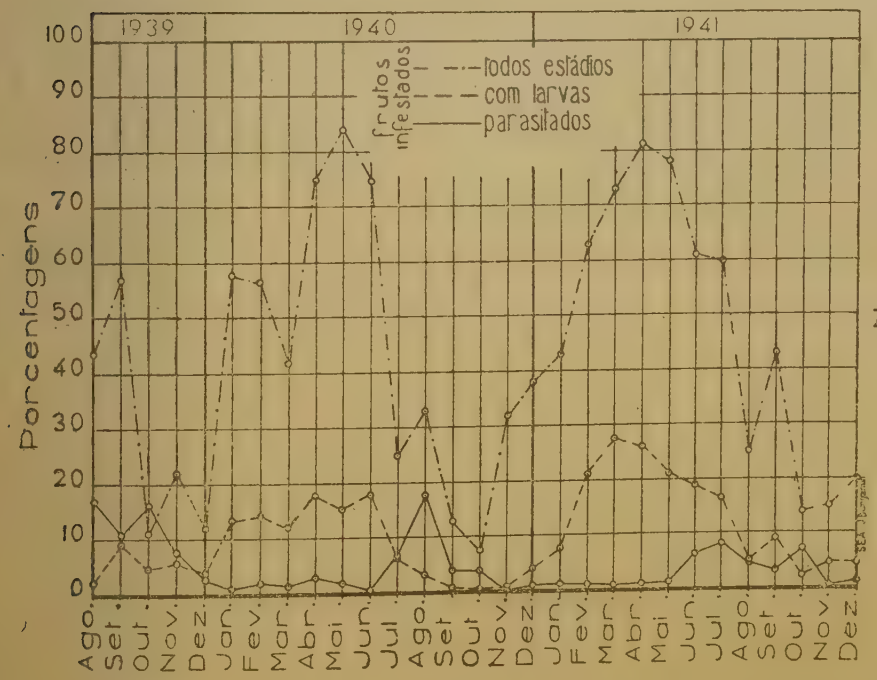



Fig. 2

grandes diferenças, de acôrdo com as características do clima de cada uma das quatro regiões comparadas.

Quanto às porcentagens de frutos infestados e povoados por todos os estádios da broca, isto é, por adultos apenas, e por adultos e respectivas larvas, nota-se que tanto em 1940 como em 1941, foram mais elevadas as porcentagens referentes às regiões de Catanduva e de Campinas; tanto no primeiro como no segundo ano, elas anteciparam as outras duas em disposição ascencional, e sobrepujaram-nas em valor e permanência a alto nível, com pequenas oscilações em torno de elevada média. Em 1940, elas culminaram em Janeiro, e só em Julho, 6 meses mais tarde, retornaram aos niveis constantes dos gráficos 3 e 4, enquanto nas regiões de Caçapava e de Agudos (figs. 1 e 2), nesse mesmo ano, alem de retardatárias, as porcentagens não atingiram niveis tão elevados e declinaram ao fim de dois meses. Relativamente ao ano de 1941, fato idêntico se repetiu com relação ao reinício do crescimento das porcentagens, niveis atingidos, etc.

Quanto às porcentagens de frutos infestados e povoados pela broca e respectivas larvas, notámos que o reinício da proliferação da praga não se deu no mesmo mês, nem com a mesma intensidade nas quatro regiões durante o tempo das observações, e outrossim, que não houve perfeita concordância entre os valores das respectivas porcentagens e duração destas a alto nivel.

Em 1939 as porcentagens mínimas verificadas coincidiram quanto a época, (Outubro), porem o mesmo não se deu com relação aos seus valores; a disposição de todas elas em ordem ascendente, por sua vez, coincidiu no correr do mês de Novembro do mesmo ano, porem em graus diferentes, assim como diferentes foram os niveis atingidos e os meses em que se verificaram.

Em Catanduva (fig. 4) houve um rápido e grande aumento de frutos com larvas em Janeiro de 1940, enquanto em nivel inferior, em Caçapava e em Agudos (figs. 1 e 2), as porcentagens máximas se verificaram em Abril, e em Maio na região de Campinas (fig. 3).

Quanto ao declínio, verificaram-se tambem discordâncias em suas respectivas datas, ordem e grandeza.

Os gráficos (figs. 3 e 4) mostram que em 1940 o declinio da população desta categoria de frutos infestados, nas regiões de Campinas e de Catanduva, se deu no correr do mês de Agosto, enquanto em Caçapava e Agudos (figs. 1 e 2), êle só atingiu seu mais baixo nivel em Setembro. Ainda, com relação às regiões de Campinas (fig. 3) e de Catanduva (fig. 4), nota-se que a população, alem de ter tido um declínio antecipado, se conservou quasi nula durante 4 meses: Setembro, Outubro, Novembro e Dezembro, ao passo que nas regiões de Caçapava

Variações periódicas das porcentagens de frutos broqueados, povoados pela broca *S. hampei* (FERR.) em todos os estádios; das porcentagens com adultos e respectivas larvas, e das porcentagens com brocas parasitadas, segundo as variações meteorologicas havidas

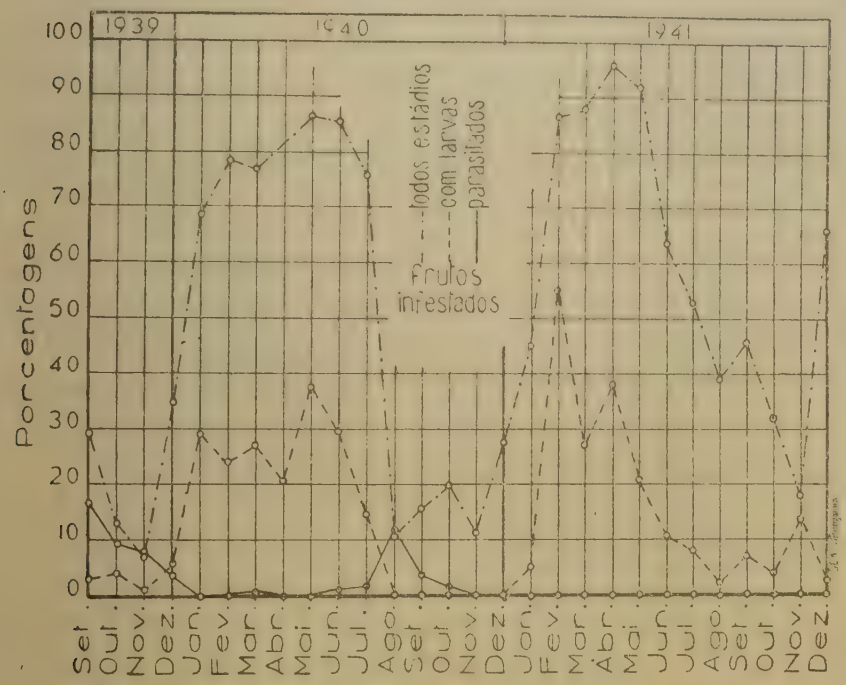



Fig. 3

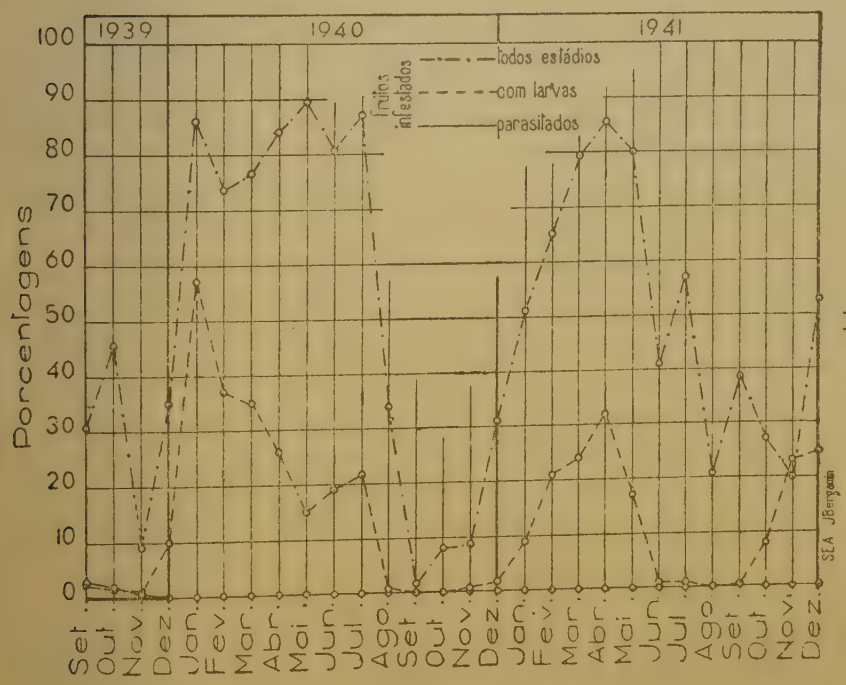



Fig. 4

e de Agudos o declínio não foi tão pronunciado e a permanência da população a baixo nivel teve uma duração muito menor, isto é, de um mês em Caçapava e dois em Agudos. Nos meses subsequentes, até Dezembro de 1941, houve repetição de fatos tais como: discordância das respectivas datas de ressurgimento, culminância e permanência das populações, em altos e baixos niveis. Na região de Campinas (fig. 3) o ressurgimento ou disposição da população em ordem ascendente se deu em Dezembro de 1940, culminou em Janeiro de 1941 e baixou em Agosto; em Caçapava (fig. 1) a reação da população se deu em Novembro de 1940, ela culminou em Abril de 1941 e de modo irregular

Médias das variações meteorológicas dos 5 meses de estiagem (Junho a Outubro inclusive) de 1939, 1940 e 1941, segundo dados fornecidos pelo Instituto Regional de Meteorologia de São Paulo, relativas as localidades de Caçapava, Agudos, Campinas e Catanduva

| Localidades | Altitude | Latitude Sul | 1939 | | | | 1940 | | | | 1941 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Temperatura do ar | | Chuva total | Umidade relativa do ar — % | Temperatura do ar | | Chuva total | Umidade relativa do ar — % | Temperatura do ar | | Chuva total | Umidade relativa do ar — % |
| | | | Média | Máxima | | | Média | Máxima | | | Média | Máxima | | |
| Caçapava . . . . . | 562 | 23° 10' | 17,9 | 26,8 | 92,7 | 71 | 18,9 | 27,4 | 164,6 | 70 | 18,0 | 25,5 | 312,7 | 76 |
| Agudos . . . . . | 604 | 22° 28' | 17,0 | 26,0 | 328,3 | 71 | 18,4 | 28,2 | 171,7 | 72 | — | — | — | — |
| Campinas . . . . | 680 | 22° 54' | 18,5 | 28,0 | 161,6 | 66 | 19,4 | 29,5 | 146,9 | 64 | 18,1 | 25,1 | 432,4 | 71 |
| Catanduva . . . . | 500 | 21° 05' | 20,2 | 28,0 | 166,2 | 67 | 22,5 | 30,0 | 139,4 | 61 | 20,8 | 28,5 | 216,2 | 68 |

baixou em Agosto; em Catanduva e Agudos (figs. 3 e 4) a reação se deu em Dezembro de 1940, atingiu o seu ponto culminante entre Março e Abril de 1941, para novamente caír respectivamente em Junho e Julho. A queda da população ao mínimo na região de Catanduva (fig. 4) mais uma vez antecipou e superou as demais, quer em valor negativo, quer em duração a baixo nivel. Embora o segundo semestre de 1941 tenha sido mais chuvoso, do que os de 1939 e 1940, nem assim foi possível notar-se maior reprodução da broca nessa região, durante esse período. Com relação às três outras regiões, os gráficos mostram que nessas a praga foi beneficiada pelas chuvas. Sua reprodução atingiu nivel bem superior ao que lhe foi possível durante o período crítico de 1940. Podemos, pois, sumariando o exposto com relação à procreação da broca nessas quatro regiões durante o período sêco, dispô-las segundo seus climas, na ordem seguinte: 1.° Caçapava, 2.° Agudos, 3.° Campinas e 4.° Catanduva. Não pretendemos com isso dizer que a broca não possa progredir igualmente em qualquer dessas re-

giões, o que seria um absurdo; procuramos apenas elucidar como o clima de cada uma delas anualmente estabelece limites entre épocas de maior e menor procreação da broca, e como essa limitação tem repercutido nas possibilidades da Vespa, que, como se sabe, não pode prescindir das larvas da broca para sua própria multiplicação.

Pela comparação das possibilidades vitais da broca nessas quatro regiões, vimos que em Catanduva, tanto em 1940 como em 1941, e possivelmente em 1939, ela não pôde procrear por um período de quatro meses, que o mesmo se verificou na região de Campinas em 1940, enquanto em Caçapava e Agudos esses períodos foram em caso algum superiores a 60 dias. E' bastante, pois, que nos lembremos, (tabela 1) de que a longevidade média da vespa é de 93 dias, quando alimentada com larvas, e de 58, quando apenas com adultos da broca, para compreendermos a razão de insucesso do parasita em Catanduva, do seu desaparecimento quasi total nas lavouras de Campinas em 1940, e da sua persistência em Agudos, Caçapava, etc.

Pela comparação das porcentagens de frutos parasitados, encontrados em Caçapava e Agudos, duas regiões de clima favoravel à broca, podemos notar que o parasitismo em Caçapava se tem mantido em nivel sempre mais elevado do que em Agudos. E' interessante notar como, nos gráficos (fig. 1 e 2), as linhas representativas do parasitismo se dispõem em relação às de frutos com larvas durante cada semestre, e principalmente, durante o segundo de 1941, o qual foi chuvoso, favoravel à broca e consequentemente ao seu parasita.

Em três das regiões comparadas, os gráficos mostram que a cada aumento ou redução das porcentagens de frutos com estádios imaturos da broca, corresponde uma elevação ou redução do parasitismo.

## AUMENTO DA POPULAÇÃO DE FRUTOS COM BROCAS PARASITADAS EM RELAÇÃO COM O AUMENTO DA POPULAÇÃO DOS FRUTOS BROQUEADOS

Como o valor econômico de um parasita em grande parte depende da sua capacidade de aumento e difusão em relação à do seu hospedeiro, julgamos de bom alvitre que um dos primeiros passos visando a estimativa do valor combativo da vespa fosse dado nesse sentido, isto é, pesquisar e determinar qual a relação de crescimento, existente entre as populações de frutos broqueados com brocas vivas e com brocas parasitadas de ocorrência simultanea e normal nas lavouras infestadas.

Estabelecido o nosso plano de pesquisas, começamos os nossos trabalhos levantando mensalmente o grau de infestação dos frutos de um lote de cafeeiros constituido de 20 árvores, em regiões diferentes

do Estado, assim como o exame de material 100% broqueado, para a determinação do seu grau de parasitismo. Os graus de infestação foram determinados contando-se aproximadamente 400 frutos de cada árvore, sendo: 100 na parte baixa (saia) e 100 na parte alta da árvore, na face correspondente ao quadrante Leste, e de modo idêntico 100 + 100 na parte exposta ao quadrante Oeste. As contagens foram feitas com o devido cuidado para se evitar a queda, principalmente dos frutos broqueados, pois isso forçosamente afetaria o progresso normal da infestação nessas partes da árvore, nos meses posteriores. O grau de infestação mensal de cada uma das 20 árvores do lote foi determinado pelo cálculo da média aritmética das porcentagens de infestação das quatro porções de 100 frutos contados, e a do lote todo, pelo cálculo da média aritmética dos 20 graus indivíduais. Êste processo, segundo observações por nós realizadas, fornece para o caso, dados suficientemente precisos.

O material destinado ao exame e determinação do parasitismo mensal, constou sempre de frutos sêcos, maduros e verdoengos, colhidos ao acaso, nas imediações, porem sempre fóra dos lotes de árvores de que nos servimos para a determinação mensal do grau de infestação.

Seguindo a técnica descrita, constatamos numa lavoura situada no município de Agudos os seguintes graus médios de infestação: 2% em Janeiro, 8,6% em Fevereiro, 10,5% em Março, 11,5% em Abril e 30% em Maio de 1940. O parasitismo verificado foi: 0,7% em Janeiro, 1,83% em Fevereiro, 1,66% em Março, 2,39% em Abril e 1,35% em Maio.

Tomando-se o grau de infestação verificado em Janeiro por unidade obtem-se os seguintes índices mensais de crescimento da população dos frutos broqueados: 1: 4,3: 5,2: 5,7: 15. A população atingiu, portanto, em Maio, uma densidade 15 vezes maior do que a inicial.

Tendo, como temos, a população de frutos broqueados, relativa a cada um dos 5 meses de observação, assim como o grau de parasitismo de cada uma delas, é evidente que muito comodamente podemos, mediante simples cálculos de porcentagem, determinar a porção parasitada de cada uma.

Si em Janeiro, quando a população era igual a um, se verificou um parasitismo de 0,7%, é evidente que a porção parasitada desta população era igual a $\frac{1 \times 0,7}{100} = 0,007$ e que de modo idêntico, a de Fevereiro seja igual $\frac{4,3 \times 1,83}{100} = 0,078$ etc.

Efetuando-se os cálculos das porcentagens relativas às cinco populações mensais (tabela 8), temos:

TABELA 8

Proporção do crescimento das populações de frutos broqueados e de frutos com brocas parasitadas de Janeiro a Maio de 1940 — Agudos

| Meses | Proporção de crescimento da população de frutos broqueados | Parasitismo | Porcentagem parasitada de cada população | Proporção do aumento do número de frutos com brocas parasitadas |
|---|---|---|---|---|
| Janeiro . . . . . | 1 | 0,7% | 0,007 | 1 |
| Fevereiro . . . . | 4,3 | 1,83% | 0,078 | 11 |
| Março . . . . . | 5,2 | 1,66% | 0,086 | 12 |
| Abril . . . . . | 5,7 | 2,39% | 0,136 | 19 |
| Maio . . . . . | 15,0 | 1,35% | 0,202 | 29 |

Tomando-se a porcentagem de Janeiro por unidade verifica-se que o aumento foi de 1 fruto com broca parasitada em Janeiro para 29 em Maio.

Embora em nivel dezenas de vezes mais baixo em relação ao da broca a população parasitada neste caso revelou, em Maio, um índice de aumento quasi duas vezes maior do que o revelado pela população dos frutos broqueados em geral.

Dados colhidos numa lavoura situada no município de Caçapava, cujos graus de infestação de Janeiro a Junho, foram respectivamente: 0,35, 0,50, 1,0, 1,6, 5,2 e 5,5%, deram-nos as relações seguintes:

Crescimento da população de frutos broqueados: 1: 1,4: 2,8: 4,5: 15: 16.

Crescimento da população de frutos com brocas parasitadas: 1: 1,4: 1,2: 4,5: 16: 80.

Os índices de multiplicação das populações dos frutos com brocas parasitadas e não parasitadas, intimamente se relacionam com os hábitos das duas espécies: parasita e hospedeiro; valendo-se êste, para viver e se reproduzir, dos elementos do próprio fruto que o abriga, sua prole geralmente deixa de emigrar em parte para outros frutos, só o fazendo quando o fruto estiver completamente destruido pelas gerações sucessivas, ao passo que, com as proles daquele, isso não se dá, porquanto ele só se alimenta da broca e destroe totalmente a população hospedeira encontrada em cada fruto visitado, fato que o obriga e aos seus descendentes, a emigrar coletivamente para outros frutos ao término de cada geração.

Dessa diferença de hábito resulta para o parasita uma capacidade de disseminação relativamente maior do que o da broca, principalmente quando a população de frutos na lavoura é constituida apenas pelos remanescentes da colheita.

O grau máximo de infestação dessa lavoura (Caçapava) em Junho de 1940 e 1941 foi de 5,5%; exames de material 100% broqueado, acusaram:

Em Novembro de 1939 — frutos com broca viva 2,8% — parasitadas 17%. Em Setembro de 1940 — frutos com broca viva 5,2% — Parasitadas 20%. Em Novembro de 1941 — frutos com broca viva 32,8% — Parasitadas 3,4%.

Acrescido a êstes dados o índice de aumento da população dos frutos parasitados, numa lavoura cuja população de frutos broqueados tem sido pequena como no presente caso, segundo parece, só à vespa se pode atribuir o estacionamento da broca em tão baixo nivel nessa região.

## CONCLUSÕES

Dêste trabalho podemos tirar as conclusões seguintes: 1.º) que, a longevidade e oviposição da Vespa de Uganda são elevados; 2.º) que, a longevidade é maior no inverno; 3.º) que, a oviposição é maior no verão; 4.º) que a mesma vespa é capaz de gerar de uma a duas proles; 5.º) que, nove gerações anuais são possiveis; 6.º) que, no inverno uma geração se completa em cerca do dobro do tempo requerido no verão; 7.º) que, o seu ataque é extensivo às brocas encontradas em frutos verdoengos; 8.º) que, ela de preferência ataca a broca alojada nos frutos pendentes; 9.º) que, das condições meteorológicas de cada zona cafeeira do Estado depende o comportamento da broca, e dêste comportamento, maior ou menor população inicial do parasita no começo de cada ano agrícola; 10.º) que a sua população ordinariamente é menor em Janeiro e maior em Junho e Julho; 11.º) que, não obstante as porcentagens de frutos com broca parasitada, ordinariamente ocorrem em nivel muito inferior ao das porcentagens de frutos infestados pela broca, verifica-se para aquelas de Janeiro a Junho um maior aumento relativo, do que para estas.

## NOTES ON THE BIOLOGY OF "PROROPS NASUTA WATERST.". A PARASITE OF THE COFFEE BERRY-BORER "STEPHANODERES HAMPEI (FERR.)"

### *Abstract*

*Investigations on the biology of Prorops nasuta Waterston in the State of S. Paulo, were conducted during the season of 1939-41.*

*The average longevity ranged from 68 to 93 days according to the season and the stage of the host upon which the parasite was fed; when it is fed exclusively upon adult hosts its longevity is greatly reduced however, it ranged from 51 to a maximum of 82 days. For individuals fed upon larvae only a maximum longevity of 155 days was recorded.*

*The average number of eggs per female was: 46 in the warm season and 7,8 in the cold season.*

*The maximum individual oviposition was 66 eggs.*

*Reproduction by arrhenotokous parthenogenesis occurred and in all cases the female was fertilized by its own offspring producing a second brood entirely of females or of both sexes. The proportion of sexes is one male to 3 females.*

*Nine generations were observed in one year.*

*Among green, ripe and dry infested fruit, the ripe and dry ones are preferred. Of these diferent kinds the number of bored fruits with adult parasites was in the proportion respectively of 1: 5: 15: whereas counts made to include fruits with adult parasites and their imature stages showed them to be present in the proportion respectively of 1: 7: 18.*

*The influence of climate upon host and parasite according to the season and geographic situation of coffee groves in the State of S. Paulo is discussed.*

*Considerations are also made concerning the increase in parasitism in relation to the percentage of infested fruit from January to May.*

*Although the percentage of infested fruit was always many times greater than the degree of parasitism the following rate of in crease was noted in the five months period January-May.*

*Relative increase of infested fruit percentage, was respectively 1: 4.3: 5.2: 5.7: 15.*

*Relative increase in the parasitized fruit percentage 1: 11: : 12: 19: 29.*

## BIBLIOGRAFIA

1 — Fonseca, J. P. & Autuori, M. — 1932 — *Principais pragas do café no Est. de S. Paulo.* Publicação do Instituto Biologico, S. Paulo. 29-34.

2 — Fonseca, J. P. & Araujo, R. L. — 1939 — Insetos inimigos do Hypothenemus hampei (Ferr.). (Broca do Café) — *Bol. Biologico,* S. Paulo, Brasil. 4: 486-504.

3 — Hargreaves, H. — 1921 — Annual report of the Government Entomologist. *Uganda Dep. Agric. Ann. Rep.,* Entebbe, 57-64.

4 — HARGREAVES, H. — 1926 — Notes on the coffee berry-borer (Stephanoderes hampei (FERR.) in Uganda. *Bull. Ent. Res.*, London. 16 (4): 347-354.

5 — HARGREAVES, H. — 1929 — Ann. Rep. of Government Entomologist. *Rep. Dep. Uganda 1928*, Entebbe, 44-45.

6 — HARGREAVES, H. — 1936 — Report of the Government Entomologist for 1935. *Rep. Dep. Agric. Uganda 1935-36*, Entebbe, (2): 8-11.

7 — HEMPEL, A. — 1924 — Prorops nasuta Waterston no Brasil. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 5, 188-212.

8 — WATERSTON, J. — 1923 — Notes on the Parasitic Hymenoptera, *Bull. Ent. Res.*, London. 103-118.

Vol. 13 — Art. 23 Dezembro de 1942

# "AMYLOPHORUS ROCHALIMAI", n. g., n. sp., (CILIATA: BÜTSCHLIIDAE) DO INTESTINO GROSSO DE "DASYPROCTA AZARAE LICHTENSTEIN, 1823" (RODENTIA: CAVIIDAE)

POR

C. Pereira e W. F. de Almeida

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 20 figuras no texto

O material usado para o presente trabalho foi obtido na localidade de Salobra (Mato Grosso — Brasil) por ocasião da 5.ª e da 7.ª excursões científicas efetuadas pelo Instituto Oswaldo Cruz à zona do pantanal de Mato Grosso sob a chefia do Prof. LAURO TRAVASSOS.

Na 5.ª excursão, realizada em janeiro de 1941, tivemos a oportunidade de examinar duas cotias das quais apenas uma se revelou positiva quanto a ciliados no intestino grosso (n.º 8.013 do registro de necrópsias do Instituto Oswaldo Cruz). Na 7.ª excursão, em maio de 1942, o conteúdo do intestino grosso de nove cotias foi colhido por TRAVASSOS & FREITAS e gentilmente posto à nossa disposição; dêste material, só os de n.os 9.198 e 9.237 continham ciliados.

O material vivo foi por nós observado no momento da necrópsia, na 5.ª excursão, e em seguida fixado em massa pelo formol-acético (formol — 10, ácido acético — 0,5, água — 90). O obtido na 7.ª excursão foi diretamente fixado em massa pelo mesmo fixador.

Posteriormente, no laboratório, o material foi observado em glicerina, corado pelo azul de toluidina, entre lâmina e lamínula. O emprego da glicerina revelou-se vantajoso por permitir rolar os ciliados, colocando-os em posições adequadas para o exame; alem disso, essas lâminas podem ser examinadas em dias sucessivos, não havendo evaporação. O azul de toluidina foi empregado por corar satisfatoriamente ao mesmo tempo o núcleo e o citoplasma, sendo de uso facílimo.

O estudo detalhado dos macro e micronúcleos foi feito após colorações pelas hematoxilinas de Heidenhain-Freitas e de Delafield.

O exame mais acurado dos ciliados foi feito em cortes seriados.

Verificamos pertencerem êsses ciliados à família *Bütschliidae* POCHE, 1913; entretanto seus caracteres não permitiram sua inclusão em nenhum dos gêneros já existentes da família, o que nos levou a erigir um novo gênero para contê-los. Dedicamos a espécie ao Prof. Dr. H. DA ROCHA LIMA.

A família *Bütschliidae* POCHE, 1913 consta, atualmente, dos seguintes gêneros:

*Bütschlia* SCHUBERG, 1888.
*Didesmis* FIORENTINI, 1889.
*Blepharoprosthium* BUNDLE, 1895.
*Blepharosphaera* BUNDLE, 1895.
*Blepharocodon* BUNDLE, 1895.
*Holophryoides* GASSOWSKY, 1919.
*Blepharozoum* GASSOWSKY, 1919.
*Prorodonopsis* GASSOWSKY, 1919.
*Paraisotrichopsis* GASSOWSKY, 1919.
*Blepharoconus* GASSOWSKY, 1919.
*Buissonella* CUNHA & MUNIZ, 1925.
*Bundleia* CUNHA & MUNIZ, 1928.
*Polymorpha* DOGIEL, 1929.
*Alloiozona* HSIUNG, 1930.
*Ampullacula* HSIUNG, 1930.
*Pseudobütschlia* JÍROVEC, 1933
(sin.: *Bütschliella* JÍROVEC, 1933).
*Sulcoarcus* HSIUNG, 1935.

A êstes gêneros acrescentamos:

*Amylophorus*, n. g.

*Bütschliidae* de corpo ovoide, ciliatura uniforme, citóstoma pequeno, situado no polo anterior, seguido por curto citofaringe; citoplasma apresentando numerosos grãos de amido; macronúcleo em forma de ferradura e micronúcleo de dimensões muito reduzidas situado na parte côncava do macronúcleo. Não possue vacúolo de concremento.

Espécie tipo: *Amylophorus rochalimai*, n. sp.

Diagnose diferencial: I) distingue-se de *Didesmis*, *Blepharoprosthium*, *Blepharocodon*, *Blepharoconus*, *Bundleia*, *Polymorpha*, *Alloiozona*, *Ampullacula* e *Sulcoarcus* por apresentar ciliatura uniforme em toda superfície do corpo, pela ausência do vacúolo de concremento e pelo macronúcleo em ferradura; ao passo que os gêneros supracitados exibem ciliatura restrita apenas a certas zonas do corpo, apresentam sempre vacúolo de concremento, e os seus macronúcleos são globosos, elípticos ou reniformes, nunca porém em ferradura, como no novo gênero;

II) distingue-se de *Bütschlia*, *Blepharosphaera*, *Holophryoides*, *Blepharozoum*, *Prorodonopsis* e *Paraisotrichopsis* principalmente pela

forma em ferradura do macronúcleo e pela ausência do vacúolo de concremento, ao passo que os gêneros supra-referidos apresentam macronúcleo esférico, elíptico ou reniforme e possuem vacúolo de concremento; quanto à distribuição dos cílios, é ela uniforme por toda a superfície do corpo, tanto nos cinco gêneros acima assinalados como em *Amylophorus;*

III) aproxima-se do gênero *Pseudobütschlia* pela presença de grãos de amido no interior do citoplasma e por não possuir vacúolo de concremento; dêle se distingue, no entanto, por ter cílios por todo o corpo, e pelo macronúcleo em ferradura, ao passo que *Pseudobütschlia* apresenta cílios apenas no polo anterior e seu macronúcleo é grande e esférico;

IV) aproxima-se do gênero *Buissonella* não só pelo aspecto geral do corpo mas principalmente pelo macronúcleo em ferradura; entretanto, dêle se distingue por não apresentar a região anterior do corpo contratil, por não possuir vacúolo de concremento e por conter, no interior do citoplasma, numerosos grãos de amido.

### *Amylophorus rochalimai,* n. sp.

(sin.: *Balantidium* sp. BUISSON, 1923)

**Material vivo:**

Ciliados ovoides, com o polo anterior mais afilado. Apresentam cílios revestindo todo o corpo, animados de movimento rápido e rítmico, dando a impressão de ondas que se propagam pelo corpo, da parte anterior para a posterior.

Seu movimento de translação é rápido e ao mesmo tempo seguido de um movimento de revolução em torno de seu eixo longitudinal.

Os grãos de amido no interior do citoplasma são incolores e muito refringentes. A primeira impressão que temos ao examinar estes ciliados é de que não passam de conglomerados de grãos de amido animados de movimento.

**Material fixado:**

Aspecto geral — Examinados entre lâmina e lamínula, em glicerina ou no fixador, os ciliados se apresentam ovoides e ligeiramente achatados dorso-ventralmente.

O material, montado em bálsamo, exibe os aspectos mais diversos, de acôrdo com a posição dos exemplares.

Dimensões — As medidas foram efetuadas em material em glicerina, afim de que os ciliados pudessem ser rolados entre lâmina e lamínula, até ficarem em posição conveniente para serem medidos. Os resultados obtidos foram os seguintes:

comprimento . . . . máx. 53,9μ, mín. 24,6μ
largura . . . . . máx. 43,1μ, mín. 22,9μ

Ciliatura — Todo o corpo é revestido por cílios finíssimos, de cerca de 3,5μ de comprimento, ligeiramente mais longos no polo anterior, principalmente em torno do citóstoma. Os cílios são dispostos em linhas oblíquas, bastante próximas umas das outras. São facilmente visiveis nos preparados em glicerina.

Membrana — E' relativamente pouco espessa, tendo em média 0,8 a 0,9μ de espessura, anista e muito refratil nos preparados em glicerina.

Citoplasma — Apresenta-se finamente granuloso, seja nos preparados em glicerina, seja nos preparados montados em bálsamo, não havendo ditinção nítida entre ectoplasma e endoplasma.

Grãos de amido — São encontrados em quantidade variavel no interior do citoplasma, sendo geralmente numerosos e ocupando completamente os ¾ posteriores do corpo do ciliado. Mesmo nos exemplares com grande quantidade de grãos de amido, verificamos que o quarto anterior do corpo é sempre desprovido dêles.

Submetidos ao micróscopio polarizador, os ciliados apresentam, nos seus grãos de amido, o fenômeno da cruz de Malta. Êsses grãos tomam também a côr azul quando tratados pelo iodo.

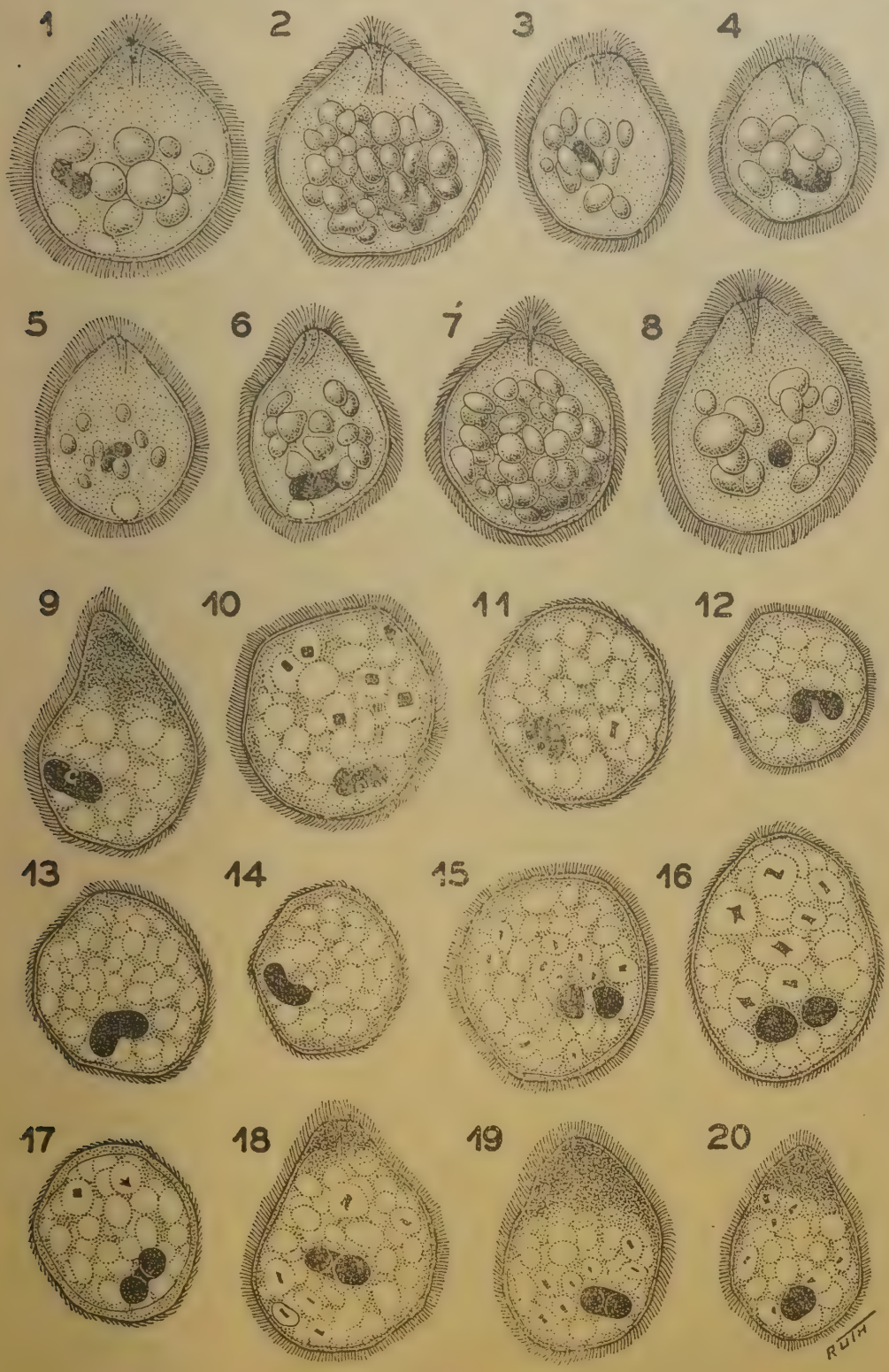
No material em glicerina, os grãos de amido são ovoides, elípticos ou globosos, muito refringentes. Nunca estão em contacto com a membrana, permanecendo sempre entre êles e esta última uma lâmina citoplasmática. As dimensões médias dêstes grãos são de 5 - 6 μ por 3 - 4 μ.

Nos preparados corados pela hematoxilina e montados em bálsamo, os grãos de amido quasi desaparecem, sendo reconheciveis apenas por círculos claros no citoplasma, sem as granulações características dêste último; entretanto, na região central dos grãos, aparecem então cristaloides proteicos que se coram fortemente pela hematoxilina (Figs. 10, 11 e 15 - 20). Provavelmente eram cristaloides da mesma natureza e origem que foram vistos por Dogiel em *Bütschlia omnivora* Dogiel, 1928 e interpretados como sendo restos nucleares resultantes da ingestão e digestão de outros protozoários.

Citóstoma — O citóstoma está situado na extremidade anterior do corpo, isto é, no polo mais afilado. E' representado por

---

*Amylophorus rochalimai*, n. g., n. sp. — Figs. 1 a 8: diferentes aspectos do material, quando corado pelo azul de toluidina e montado em glicerina. — Figs. 9 a 20: diferentes aspectos do material, quando corado pelas lacas de hemateina e montado em bálsamo.




Explicação das figuras, vide à pag. 264

pequena solução de continuidade da membrana a êsse nivel. Seus bordos são ligeiramente salientes.

Citofaringe — E' um tubo de cerca de 4-7 μ de comprimento, continuando anteriormente com o citóstoma e terminando, posteriormente, em plena massa citoplasmática. Sua forma é ligeiramente afunilada quando visto de face, cilíndrica e encurvada, quando de lado; no conjunto, portanto, tem uma forma afunilada e de secção elíptica, ligeiramente encurvada segundo o plano anteroposterior.

O citóstoma e o citofaringe são visiveis facilmente no material montado em glicerina, devido à possibilidade de sua manipulação e orientação em posição conveniente. Entretanto, nos preparados montados em bálsamo, só acidentalmente podem ser vistas essas estruturas, nas ocasiões em que acontece o ciliado ficar em posição adequada.

Vacúolos pulsateis — Há dois vacúolos pulsateis posteriores, um em posição terminal e outro subterminal (Figs. 1, 4, 5 e 6). Em alguns exemplares é visivel apenas um dêles, ou o terminal ou o subterminal. Em outros, nenhum é visivel, ou por estarem em sístole, ou porque a grande quantidade de grãos de amido impede que sejam vistos.

Núcleos — O macronúcleo está situado para trás da zona equatorial do ciliado. Sua forma é de ferradura, com as extremidades mais dilatadas e esféricas. Suas dimensões variam entre 12,7μ e 5,0μ, sendo estas medidas efetuadas em exemplares corados pela hematoxilina e montados em bálsamo.

O micronúcleo é de dimensões reduzidas e está situado na parte côncava do macronúcleo (Figs. 1 e 9-11).

No material corado pelo azul de toluidina e montado em glicerina, os macro e micronúcleos são visiveis apenas nos exemplares que possuem poucos grãos de amido, e assim mesmo só quando se faz rolar o ciliado entre lâmina e lamínula, até se obter uma posição conveniente. O macronúcleo aparece então granuloso e o micronúcleo, homogêneo. Quando os grãos de amido são numerosos, nem mesmo o macronúcleo é perceptivel.

O material corado pelas hematoxilinas e montado em bálsamo foi o único a permitir um estudo acurado dos núcleos. Como o aspecto do macronúcleo varia conforme a posição do ciliado, tornou-se necessário um exame cuidadoso de numerosos exemplares antes que pudéssemos determinar sua forma exata. Assim, o macronúcleo pode se apresentar esférico, ovoide, elíptico, em bastonete, reniforme, ou ainda como duas esferas isoladas ou ligadas por uma trave mais estreita, conforme o ângulo sob o qual é visto (Figs. 9-20).

Tal variabilidade de aspectos do macronúcleo autoriza-nos a referir à espécie por nós estudada o *Balantidium* sp. BUISSON, 1923, que êste autor teve a oportunidade de estudar nos esfregaços feitos por E. BRUMPT, em 1914, com material do ceco de cotia, obtido em Lins, no Estado de São Paulo. Os caracteres assinalados por BUISSON fazem-nos pensar no ciliado que presentemente estudamos, principalmente quando êle diz que o macronúcleo é ovoide e frequentemente se encontram indivíduos com dois macronúcleos ovoides. Provavelmente, BUISSON, não pôde fazer um estudo detalhado do ciliado, por só dispor de esfregaços antigos e possivelmente mal conservados.

Hospedeiro: *Dasyprocta azarae* LICHTENSTEIN, 1823.
Localização: Intestino grosso.
Procedência: Salobra (Estado de Mato Grosso) — Brasil.

## "AMYLOPHORUS ROCHALIMAI", N. G., N. SP., (CILIATA: BÜTSCHLIIDAE) FROM THE LARGE INTESTINE OF "DASYPROCTA AZARAE LICHTENSTEIN, 1823" (RODENTIA: CAVIIDAE)

*Abstract*

*Amylophorus, n. g., with A. rochalimai, n. sp., as type species, is erected for a bütschliid holotrichean found in the large intestine of the brazilian agouti, Dasyprocta azarae Lichtenstein, 1823, with the following diagnosis: Bütschliidae of ovoidal body, uniformly distributed cilia, small cytostome in the anterior extremity, followed by a short cytopharinx; cytoplasm with numerous grains of starch; the macronucleus is horse shoe shaped and the micronucleus is very small and situated in the concavity of the macronucleus. Concremente vacuole absent.*

*Differencial diagnosis: I) The new genus is distinguishable from Didesmis, Blepharoprosthium, Blepharocodon, Blepharoconus, Bundleia, Polymorpha, Alloizona, Ampullacula and Sulcoarcus by the uniform ciliation on the whole body, by the absence of a concretion vacuole and by the horse shoe shaped macronucleus. In the above mentioned genera, the ciliation is restricted to a few zones of the body, a concrement vacuole is always present and theirs macronuclei are sphaerical, ellipsoid or reniform, but never horse shoe shaped as in the new genus.*

*II) Differs from Bütschlia, Blepharosphaera, Holophryoides, Blepharozoum, Prorodonopsis and Paraisotrichopsis by the horse shoe shaped macronucleus and by the absence of a concrement vacuole; whereas in those genera the macronuclei are sphaerical, ellipsoid or reniform. The cilia are uni-*

*formly arranged on the whole surface of the body, both in the above referred genera and in Amylophorus.*

*III) Allied to Pseudobütschlia by the absence of a concrement vacuole, differs from it, however, by the uniform ciliation and the horse shoe shaped macronucleus. In Pseudobütschlia the cilia are restricted to the anterior end and the macronucleus is large and sphaerical.*

*IV) Allied to Buissonella by the general shape of the body and by the horse shoe shaped macronucleus; differs from the latter by the presence of grains of starch, by the not retractile anterior end of the body and by the absence of a concrement vacuole.*

## BIBLIOGRAFIA


BECKER, E. R. & HSIUNG, T. S. — 1930 — The Protozoa of the alimentary tract of domestic ruminants and the horse. *in* R. HEGNER & J. ANDREWS — *Problems and Methods of Research in Protozoölogy*, 49-58. The MacMillan Company, New York.

BRANDT, H. — 1937 — Über die Panseninfusorien der Wiederkäuer. *Münch. Tierärzt. Wochensch.*, 88, 481 - 483.

BUISSON, J. — 1923 — Sur quelques infusoires nouveaux ou peu connus parasites des mammifères. *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, 1, 209-246.

BUNDLE, A. — 1895 — Ciliate Infusorien im Coecum des Pferdes. *Zeitschr. Wissensch. Zool.*, 60, 284-350.

BÜTSCHLI, O. — 1887 - 1889 — Protozoa III. *in* Dr. H. G. BRONN'S *Klassen und Ordnungen des Thier-Reichs.* C. F. Winter'sche Verlagshandlung, Leipzig.

CHAVARRIA, Ch. M. — 1933 — Estudios protistologicos I — Fauna del tubo digestivo del toro (Bos taurus Linn.) de Mexico. *Ann. Inst. de Biol.*, Mexico, 4, 109-142.

CUNHA, A. M. da — 1914 — Sôbre os ciliados do estômago dos ruminantes domésticos do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 6, 58-68, est. VII.

CUNHA, A. M. da — 1914 — Sôbre os ciliados intestinais dos mamíferos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 6, 212-215, est. XXIX.

CUNHA, A. M. da — 1919 — Sôbre os ciliados intestinais dos mamíferos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 11, 5-9, est. I.

CUNHA, A. M. da & MUNIZ, J. — 1925 — Contribuição para o conhecimento dos ciliados parasitos dos mamíferos do Brasil. *Sci. Med.*, Rio de Janeiro, 3, 732-747.

CUNHA, A. M. da & MUNIZ, J. — 1928 — Nouveau cilié parasite du coecum du Tapirus americanus. Description d'un nouveau genre. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 98, 631-632.

DOFLEIN, F. & REICHENOW, E. — 1929 — *Lehrbuch der Protozoenkunde*, G. Fischer, Jena, 2 Teile, 5. Auf., 1262 pp.

DOGIEL, V. — 1926 — Sur quelques infusoires nouveaux habitant l'estomac du dromadaire (Camelus dromedarius). *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, 4, 241-271.

DOGIEL, V. — 1928 — La faune d'infusoires habitant l'estomac du buffle et du dromadaire. *Ann. Parasit. Hum. et Com.*, 6, 323-338.

DOGIEL, V. — 1929 — Die sog. "Konkrementvacuole" der Infusorien als eine Statocyste betrachtet. *Arch. Protistenk.*, 68, 319-348.

EBERLEIN, R. — 1895 — Über die im Wiederkäuermagen vorkommenden ciliaten Infusorien. *Zeitsch. Wissensch. Zool.*, 59, 233-304, Taf. XVI-XVIII.

FIORENTINI, A. (*) — 1889 — Intorno ai protisti dello stomaco dei bovini. Pavia, frat. Fusi., 27 pp., 6 pls.

FIORENTINI, A. (*) — 1890 — Intorno ai protisti dell'intestino degli equini. *Boll. Sci.*, Pavia 12, 7-17, 51-60.

GASSOWSKY, G. — 1919 — Notes et communications — On the microfauna of the intestine of the horse. *Traveaux de la Soc. des Naturalistes de Pétrograd*, 49, 20-37 e 65-69.

GUPTA, M. Das — 1935 — Preliminary observations of the protozoan fauna of the rumen of the Indian goat, Capra hircus L. *Arch. Protistenk.*, 85, 153-172.

HARTMANN, M. — 1925 — *Allgemeine Biologie.* Fischer, Jena, 262 pp.

HASSELMANN, G. — 1918 — Sôbre os ciliados intestinais dos mamíferos. *Brasil Médico*, 32, 81.

HSIUNG, T. S. — 1930 — A monograph on the protozoa of the large intestine of the horse. *Iowa St. Col. Jl. Sci.*, 4, 356-423.

HSIUNG, T. S. — 1930 — Some new ciliates from the large intestine of the horse. *Trans. Am. Micr. Soc.*, 49, 34-41, 1 pl.

HSIUNG, T. S. (*) — 1935 — On some new ciliate from the mule, with description of a new genus. *Bull. Fan. Memorial Inst. Biol.* (Zool.), Peiping, 6, 81, 1 pl.

HSIUNG, T. S. (*) — 1936 — A survey of the ciliates of Chinese equines. *Bull. Fan. Memorial Inst. Biol.* (Zool.), Peiping, 6, 289-304, 3 pls.

JAMESON, A. P. — 1925 — A note on the ciliates from the stomach of the Mouse-Deer (Tragulus meminna Milne Edwards) with description of Entodinium ovalis n. sp. *Parasit.*, 17, 406-409.

JÍROVEC, O. — 1933 — Beobachtungen über die Fauna des Rinderpansens. *Zeitsch. Parasitenk.*, 5, 584-591.

JÍROVEC, O. — 1933 — Berichtigung zu der Arbeit von Otto Jírovec: "Beobachtungen über die Fauna des Rinderpansens". *Zeitsch. Parasitenk.*, 6, 150.

KUDO, R. R. — 1939 — *Protozoology.* Charles Thomas Pub., Illinois, 689 pp.

NEIVA, A., CUNHA, A. M. & TRAVASSOS, L. — 1914 — Contribuições parasitológicas — I — *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 6, 180-191.

PINTO, C. — 1925 — Protozoários observados no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 18, 211-302, est. XVI-XXVIII.

POCHE, F. — 1913 — Das System der Protozoa. *Arch. Protistenk.*, 30, 125-321.

RAILLIET, A. — 1895 — *Traité de Zoologie médicale et agricole.* Asselin et Houzeau, Paris, 173-174.

SCHUBERG, A. — 1888 — Die Protozoen des Wiederkäuermagens. I — Bütschlia, Isotricha, Dasytricha, Entodinium. *Zool. Jahrb.* (Syst.), 3, 365-418, Taf. XII-XIII.

SCHOUTEDEN, H. (*) — 1906 — Les Infusoires Aspirotriches d'eau douce. *Ann. Biol. Lac.*, 1, 383-408.

STRELKOW, A. — 1931 — Über die Fauna des Colons beim Zebra. (Ciliates). *Zool. Anz.*, 94, 37-54.

TRAVASSOS, L. — 1941 — Relatório da 5.ª excursão do Instituto Oswaldo Cruz, realizada à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em janeiro de 1941. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 36, (3), 263-300, 2 est.

WENYON, M. C. — 1926 — *Protozoology.* William Wood Co., New York, 2 vol., XVI, 1563 pp.

(*) Não consultado o original.

Vol. 13 — Art. 24 Dezembro de 1942

# REAÇÃO FIBROSA DA PAREDE DO ESTÔMAGO DE "TAPIRUS AMERICANUS" PROVOCADA POR "PHYSOCEPHALUS NITIDULANS (SCHNEIDER, 1866)" (NEMATODA: SPIRURIDAE)

POR

R. Cuocolo

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com as estampas 36-37

Por ocasião da 3.ª Excursão Científica do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro ao Pantanal de Mato Grosso, realizada em fevereiro e março de 1940 e chefiada pelo Professor LAURO TRAVASSOS, tivemos oportunidade de necropsiar, na localidade de Ilha Seca, no Estado de São Paulo, em companhia do Dr. J. F. TEIXEIRA DE FREITAS, uma anta que apresentava grande número de nodosidades na face interna do estômago.

Essas nodosidades, particularmente numerosas na região do antro e da grande curvatura, estavam relacionadas com um espirurídeo, obtido e descrito por SCHNEIDER, em 1866, do estômago de uma anta do Brasil, sob a denominação de *Filaria nitidulans* SCHNEIDER, 1866. Em 1898, STOSSICH, em trabalho sobre filárias e espirópteras, coloca o parasito de SCHNEIDER na sinonímia de *Spiroptera sexalata* MOLIN, 1860, parasito do estômago do porco doméstico. CIUREA, em 1912, estudando comparativamente o material de SCHNEIDER com exemplares de *S. sexalata*, obtidos do estômago de porcos domésticos, discorda de STOSSICH, concluindo pela distinção em duas espécies diferentes, mas incluindo-as no gênero *Physocephalus* DIESING, 1861. TRAVASSOS, em 1928, numa pequena nota sobre a subfamília dos *Arduenninae* RAILLIET-HENRY, 1911, tambem dá como espécies distintas o *Physocephalus sexalatus* (MOLIN, 1860) do estômago do porco doméstico e o *Physocephalus nitidulans* (SCHNEIDER, 1866) do estômago da anta. Alguns tratados de helmintologia, como o de NEVEU-LEMAIRE, 1936, assinalam o parasitismo esporádico de *P. sexalatus* no estômago de anta, o que seguramente não é correto, pois nestes casos trata-se, sem dúvida, do parasito de SCHNEIDER.

O material estudado, registrado sob n.os 11.954 e 11.955 da coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, foi-nos gentilmente cedido pelo Prof. TRAVASSOS, a quem muito agradecemos, para ser estudado conjuntamente com os demais representantes da subfamília dos

*Arduenninae,* trabalho que estamos elaborando na Secção de Parasitologia Animal do Instituto Biologico.

Deixaremos de lado os detalhes morfológicos e a discussão da validez desta espécie, o que apresentaremos em trabalho futuro sobre os *Arduenninae,* dando na presente nota apenas alguns dados sobre a reação que ela provoca por parte de seu hospedeiro.

A reação é de bastante interesse, em particular quando comparada a reações semelhantes provocadas por helmintos da mesma família. Sabemos que, entre os *Spiruridae* OERLEY, 1885, ha muitos representantes capazes de desencadear em seus hospedeiros processos reacionais, por vezes muito intensos, principalmente no que se refere ao tecido conjuntivo submucoso.

O processo reacional é precedido de um estado inflamatório relativamente intenso, provocado não só pelos danos mecânicos que os parasitos causam às mucosas e pelas suas secreções tóxicas, mas tambem por infecções bacterianas secundárias, que se instalam nas mucosas assim danificadas. A êsse estado inflamatório segue-se o processo cicatricial e, sob certas condições, o tecido conjuntivo submucoso chega a proliferar tão intensamente que leva à formação de nódulos fibróticos que muitas vezes atingem dimensões consideraveis.

Assim, o *Physocephalus sexalatus* (MOLIN, 1860) provoca no porco uma gastrite muito intensa, estudada por VON RÄTZ em 1899 e depois por RAILLIET & HENRY em 1911. Os animais portadores dessa gastrite tornam-se inquietos, perdem logo o apetite, vomitam o que ingerem e chegam por fim a recusar todo e qualquer alimento, entrando dêsse modo em estado de desnutrição acentuada, que conduz finalmente a caquexia e morte. Em tais casos a necrópsia demonstra um estado inflamatório intenso da mucosa do estômago, que exibe grande número de pequenas ulcerações e nódulos fibrosos de pequeno volume.

A reação por nós encontrada na anta parasitada pelo *Physocephalus nitidulans* (SCHNEIDER, 1866) é particularmente intensa, e reveste-se de caráter anatômico muito mais grave do que a gastrite dos porcos. Os helmintos provocam no local de implantação, na mucosa do estômago, uma reação muito nítida, que se ultima pela constituição de nódulos fibróticos, de forma semiesférica, relativamente volumosos, tendo cerca de 2 a 3,5 cm. de diâmetro na base de implantação e 1 a 2,5 cm. de altura. São de consistência dura e coloração amarelo-acastanhada, às vezes avermelhada. Os nódulos são providos de um orifício central em sua superfície livre, por onde emerge a extremidade posterior dos helmintos que, no interior dos nódulos, ficam abrigados em verdadeiros tuneis conjuntivos. As pregas da mucosa, normalmente dispostas no sentido longitudinal, interrompem-se ao nivel dos nódulos,

onde surge um pregueamento em sentido radiado, a partir do seu orifício central. Cortados e comprimidos, êsses nódulos dão saída a um líquido puriforme, bastante viscoso e de coloração amarelo-suja.

O exame histológico dos tumores mostra um intenso processo de fibrose que se instalou sobre processo inflamatório antigo e intenso. O tecido conjuntivo submucoso mostra-se intensamente proliferado estando em alguns pontos já hialinizado. Ao lado da grande proliferação conjuntiva podemos notar, em muitas áreas, infiltrados inflamatórios extensos, constituidos predominantemente por polimorfo-nucleares neutrófilos, e noutras, resquícios dêsses infiltrados. Muito raramente podemos distinguir restos celulares provenientes de ácinos gastricos que se necrosaram. Em alguns pontos distinguem-se formações nodulares constituidas principalmente por polimorfo-nucleares neutrófilos que correspondem a pequenos abcessos que se formaram no interior dos nódulos.

Ao redor dos helmintos, no interior dos nódulos, pode-se notar um grande número de leucocitos degenerados, traduzindo processos de infecções bacterianas secundárias que se instalaram sobre as ulcerações da mucosa. O número de elementos inflamatórios decresce à medida que nos afastamos da área central dos nódulos, que é ocupada pelos helmintos, de maneira a se tornarem raros na periferia nodular os elementos figurados que traduzem o processo inflamatório, predominando nestes pontos o tecido conjuntivo, que exibe hialinização, mais ou menos acentuada conforme as zonas. Nota-se, por outro lado, intensa neoformação vascular, mais evidente nas áreas circunvizinhas aos parasitos, onde se encontra grande número de pequenos vasos, muitas vezes apresentando consideravel espessamento de suas paredes, com ou sem processo de hialinização. Ao contrário do que se devia esperar, a eosinofilia é discreta e, em muitos pontos, praticamente inexistente. O tecido glandular, na base dos nódulos, apresenta, em alguns pontos, acentuada hipertrofia de seus ácinos, acompanhada frequentemente de hiperplasia, ao passo que em outros casos estes estão em franca necrose e já envoltos por tecido conjuntivo proliferado.

A reação encontrada no estômago da anta aproxima-se, de modo geral, da encontrada no estômago e, mais raramente, no intestino delgado de cavalos, parasitados por um outro espirurídeo, *Draschia megastoma* (RUDOLPHI, 1819). Êste parasito, tambem pela irritação do tecido conjuntivo submucoso, provoca proliferações acentuadas, que levam à constituição de nódulos fibróticos, por vezes volumosos. Em nosso caso, porém, não encontramos os pequenos adenomas em torno dos helmintos, como assinalaram PETIT & GERMAIN (in NEVEU-LE-

MAIRE, 1936) para os casos de habronemose gástrica de equídeos, mas simplesmente, como já dissemos, hipertrofia e hiperplasia dos ácinos gástricos nas proximidades dos nódulos.

## DISCUSSÃO

Reações do tipo da que acabamos de assinalar têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, uns procurando salientar o papel primacial desempenhado pelos helmintos, outros atribuindo-lhes participação meramente secundária e, finalmente, alguns negando-lhes qualquer intervenção nos processos reacionais.

Atualmente podemos aceitar como exato que, sob certas condições, os helmintos, bem como os demais parasitos, desempenham papel de certa relevância, direta ou indiretamente, nos processos reacionais desenvolvidos nos tecidos de seus hospedeiros. Contudo, mesmo entre os autores que admitem a possibilidade de seres ou organismos vivos poderem provocar por parte dos tecidos dos hospedeiros processos proliferativos, muitos têm posto em dúvida êsse poder no tocante aos helmintos. Alegam os últimos que, na maioria dos casos, encontramos nos preparados histológicos grande número de bactérias em relação com as massas tumorais, e que seriam justamente estas as responsaveis pelo processo. Ora, é sabido que essas tumorações, ordinariamente com vascularização deficiente, são mal nutridas e por isso necrosam e ulceram, e sobre tais ulcerações se instalam infecções secundárias; por conseguinte as bactérias são de aparecimento ulterior ao desenvolvimento das proliferações. Aliás FIBIGER, ao estudar o cancer espiróptero dos ratos, tivera a atenção voltada para êsse fato e nesse sentido tomou trinta casos; examinando-os cuidadosamente, constatou que apenas dois se apresentavam completamente isentos de bactérias, ao passo que em 28 verificou a presença de germens de infecção secundária; fato interessante de notar é que as bactérias se encontravam sempre nas camadas superficiais e nunca nas mais profundas, onde tem origem o processo canceroso. Por êsses dois motivos: casos de cancer sem bactérias, e casos com bactérias, mas sempre de localização superficial, FIBIGER julgou poder afastar a possibilidade da intervenção das bactérias no cancer espiróptero. Não podemos negar, entretanto, que o aparecimento dos germens sobre os tecidos danificados venha colaborar para aumentar o seu processo irritativo e proliferativo.

Uma vez assente que, em certas condições, os helmintos são capazes de produzir nos tecidos do hospedeiro estímulos que os levam a reagir proliferativamente, resta saber qual o mecanismo de ação dos parasitos sobre os tecidos.

A simples causa mecânica, isto é, o traumatismo contínuo provocado pelo helminto nos tecidos do hospedeiro, seria insuficiente para explicar o aparecimento de processos tumorais. FIBIGER, 1913, é de opinião que a ação mecânica pura, exercida pelos helmintos, não seria suficiente para explicar o aparecimento de neoplasias, achando que talvez a ação mecânica fosse um fator que proporcionasse um bom meio para o desenvolvimento de bactérias, segundo as observações de BLANCHARD, METCHNIKOFF, BRUMPT, WEINBERG e outros sobre o papel dos helmintos no desenvolvimento de infecções bacterianas do tubo gastro-entérico; contudo, mais adiante, o próprio FIBIGER afasta as bactérias da etiopatogenia do cancer espiróptero. BINDO DEL VECCHI, 1908, por exemplo, acha que o processo neoplásico seria provocado por uma irritação crônica local por parte do helminto. Êste autor, estudando um caso de sarcoma desenvolvido em torno de um *Cysticercus fasciolaris* RUDOLPHI, 1808, do fígado de rato, diz que essa neoplasia se desenvolveu à custa do tecido cicatricial pericístico, lembrando, em apoio de sua opinião, o que se passa com os sarcomas da pele. Ora, esta teoria, si bem que bastante simplista, encontra sérios argumentos contra sua confirmação, pois em órgãos de certos animais, em que se desenvolvem neoplasias à custa do parasitismo por determinados helmintos, não se verificam processos proliferativos quando êsses órgãos são parasitados por outros helmintos, mesmo dotados de maior porte e causadores de maiores injúrias mecânicas aos tecidos. Assim, sabe-se que a *Capillaria gastrica* BAYLIS, 1926, parasito do estômago de rato, nada provoca no que concerne a proliferações neoplásicas, ao passo que, segundo FIBIGER, 50% dos ratos que sobrevivem experimentalmente à infestação pelo *Gongylonema neoplasticum* apresentam-se cancerosos.

LOEHLEIN, 1907 é de opinião que a neoplasia se verifica devido a um desvio para a malignidade, da hiperplasia compensadora que se verifica no órgão parasitado. Assim, uma víscera parasitada apresenta uma atrofia local, que acarreta, vicariantemente, uma hiperplasia de suas partes sãs, hiperplasia esta que sofreria secundariamente um desvio para crescimento excessivo e autônomo, transformando-se no processo neoplásico. Crê êste autor que êsses argumentos explicariam o fato de em certos casos de cisticercose pelo *Cysticercus fasciolaris*, o processo sarcomatoso se desenvolver à distância do foco parasitário. A teoria de LOEHLEIN, 1907, que parece explicar satisfatoriamente êsses casos, deixa entretanto sem explicação o caso geral, em que o processo neoplásico se desenvolve sobre o próprio foco de parasitismo.

DÉVÉ, 1930, estudando as relações entre o cisto hidático e o cancer, acha que o parasito agiria como corpo estranho, provocando processo reacional crônico ou atrofia involutiva mecânica cicatricial.

Tambem FERGUSON, 1911, estudando a esquistosomose vesical, diz que os ovos do *Schistosoma haematobium* (BILHARZ, 1852) podem ser considerados como elementos irritantes suceptíveis de provocarem cancer; e embora não diga qual seja a natureza dessa irritação, deixa entrever que acredita em sua irritação mecânica.

BORREL, 1903, foi um dos primeiros investigadores a se interessarem pelos cânceres parasitários de origem helmíntica, e tambem o primeiro a emitir uma hipótese explicativa de sua origem. Admitiu que os cânceres em geral são devidos a virus e que, no caso particular dos cânceres parasitários, os parasitos não desempenhariam outro papel senão o de funcionarem como portadores desses virus. Ha grande número de fatos que depõem contra a opinião de BORREL: em primeiro lugar, devemos supôr um virus, cuja presença nem sempre pode ser comprovada; em segundo lugar, devemos criar nova hipótese, admitindo que somente certos parasitos são dotados da capacidade de funcionar como veículos dêsses virus, ou então, que êsses virus só conseguiriam desenvolver-se em determinados parasitos, o que parece pouco provavel, pois temos parasitos muito próximos, do ponto de vista sistemático, vivendo no mesmo órgão de uma determinada espécie animal, e cujo poder cancerígeno se encontra presente em um e ausente no outro. Ha casos, porém, que confirmam a teoria do virus de BORREL, como o sarcoma transmissivel da galinha, estudado por ROUX. Outro fato que traz apoio às idéias de BORREL é o lembrado por BRUMPT em 1930. O sarcoma do fígado do rato, provocado pelo *Cysticercus fasciolaris*, reproduz-se experimentalmente com maior facilidade, quando os ovos empregados para a infestação do rato são provenientes de *Taenia taeniaeformis*, desenvolvida à custa de um cisticerco que se encontrava em relação com um processo sarcomatoso do fígado de rato. Admite, pois, BRUMPT que os ovos da *Taenia* tenham transportado o virus atravez gerações.

Outra teoria que tem sido muito discutida e muito fundamentada é a tóxica, química ou secretória, a qual admite que os cânceres parasitários são devidos essencialmente às secreções dos parasitos. E' grande o número de fatos que apoiam essa maneira de pensar. Sabemos que, experimentalmente, tem-se produzido cânceres em animais a partir do pincelamento de seus tecidos com certas substâncias químicas irritantes como o alcatrão, por exemplo; são conhecidos, por outro lado, casos de cânceres profissionais dos operários que manuseiam certas substâncias. Outrossim, sabe-se que os parasitos, em nosso caso particular

os helmintos, secretam substâncias de caráter tóxico; ora, é lógico pensar que, sob certas condições essas toxinas venham a exercer ação cancerígena sobre os tecidos do hospedeiro. Sabemos que os helmintos provocam nos órgãos parasitados reações inflamatórias, por vezes de grande intensidade; essas reações inflamatórias se traduzem frequentemente por infiltrações celulares, acompanhadas de esclerose, alterações císticas dos tecidos e fenômenos de hiperplasia, o que HAALAND, 1911, interpretou como um estado precancerígeno. Por outro lado tem-se verificado que os cânceres são geralmente precedidos de um estado inflamatório mais ou menos intenso. Sob condições adequadas, os fenômenos de hiperplasia sofreriam um desvio para a linha neoplásica, passando seu crescimento a se dar de maneira excessiva e autônoma. Já MALPIGHI, em 1687, atribuiu às secreções dos parasitos papel de destaque na gênese dos tumores. Tambem NICOLLE & MAGROU, no seu livro de 1922, referem as secreções tóxicas dos parasitos como causa de tumores em vegetais; suas idéias tiveram posteriormente confirmações por parte de grande número de pesquisadores como MARCHALL, WEIDEL, MAGNUS, JAMES e outros (in FRANCHINI, 1926). WESTENHÖFER, em 1928, defendendo a teoria química, é de opinião que o parasito, muitas vezes encontrado já morto e mesmo calcificado no interior das massas tumorais, não invalidaria essa teoria, pois, conforme demonstrara LEITCH, o agente cancerígeno não precisa agir indefinidamente para que o cancer continue a se desenvolver. Aliás FIBIGER, 1913, tambem constatara que o cancer espiróptero de ratos e camondongos continua seu desenvolvimento após a morte dos espirópteros. Observação interessante em apoio da explicação secretória da teoria parasitária foi feita por ERWIN SMITH. (in FRANCHINI, 1926). Sabe-se que a *Heterodera marioni* (CORNU, 1879), GOODEY, 1932, é um nematoide que desencadeia o desenvolvimento de tumores em raizes vegetais; ora, COBB encontrou raizes parasitadas por êsse nematoide e que tinham um aspeto completamente normal. ERWIN explicou tal fato por se encontrarem os nematoides nesses casos, apenas com pequena porção do corpo no interior das raizes, deixando para fora justamente a parte excretora de substâncias tóxicas. Em apoio à teoria toxínica é interessante tambem a observação feita por NISHIMURA em 1931. Êste autor trabalhou experimentalmente com o *Gongylonema orientalis* e notou que o desenvolvimento do cancer estava relacionado com o aparecimento da glândula cefálica do nematoide, sendo por isso levado a responsabilizá-la como o fator principal do aparecimento da neoplasia.

Do ponto de vista da teoria tóxica ou química, é interessante a constatação feita por SOROUR em 1929. Êste autor estudando as com-

plicações neoplásicas das bilharzioses, verificou que no interior dos neoplasmas malignos os ovos dos esquistósomas não são envolvidos pela reação inflamatória, de observação corrente nas bilharzioses simples, a não ser, algumas vezes, por um número bastante diminuto de eosinófilos. Julga que as células inflamatórias, principalmente as células endoteliodes, os gigantocitos e os eosinófilos formariam um verdadeiro escudo de defeza para os tecidos circunvizinhos, neutralizando a poderosa toxina bilharziana e limitando dêsse modo a irritação dos tecidos apenas às lesões inflamatórias. A ausência dêsses elementos permitiria que as toxinas livres agissem violentamente sobre os tecidos, provocando por parte dêstes reações de tipo neoplásico.

Outro fato que parece confirmar a ação toxínica exercida pelos helmintos são as observações de vários autores, em particular de FIBIGER, no cancer espiróptero, mostrando que, ao menos nos primeiros estádios, o desenvolvimento da massa tumoral é proporcional ao número de parasitos abrigados pelo órgão. E' verdade que em estados ulteriores não persiste essa relação, o que se pode explicar pelo fato da própria célula cancerosa se tornar um parasito, devido às substâncias tóxicas que secreta, decorrentes de alterações bioquímicas provocadas pelo parasito.

SOROUR em 1921 levou a termo experiências interessantes, procurando demonstrar a ação tóxica desempenhada pelos ovos de *Schistosoma haematobium* (BILHARZ, 1852) e sua ação marcante no desenvolvimento dos processos de neoplasias. Tomou ovos larvados de *Schistosoma* e injetou-os, por via endovenosa, em um coelho; sacrificando o animal após uma semana, notou o aparecimento de tubérculos bilharziosos no pulmão. Em outro coelho injetou endovenosamente ovos larvados e previamente aquecidos durante dez minutos a 55° C.; tendo depois de algum tempo sacrificado o animal, nada encontrou digno de nota ou semelhante ao que se passara com o primeiro animal. Dêsse modo, pois, tendo o aquecimento provocado o morte dos embriões e cessado com isso a secreção de substâncias tóxicas, explicar-se-ia a ausência de reações no segundo animal da experiência.

Em 1941, em colaboração com C. PEREIRA, tivemos oportunidade de estudar um caso de papilomatose desenvolvida nas vias biliares de *Leptodactylus ocellatus* (L.) parasitado por *Choledocystus eucharis* PEREIRA & CUOCOLO, 1941. Neste caso tambem parece que a ação tóxica das secreções do parasito tenha tomado papel de capital importância no desenvolvimento da neoplasia. Em primeiro lugar, tanto nos preparados totais como nos cortes histológicos, foi-nos possivel consta-

tar grande número de glândulas no interior do parasito, principalmente nas regiões faringea e esofagiana; em segundo lugar, pudemos notar, em cortes de pâncreas, extensas áreas de necrose de coagulação em torno de ovos que, esporadicamente, haviam penetrado no interior dos canalículos pancreáticos, devido às relações íntimas que êstes contraem com o colédoco do *Leptodactylus*.

## CONCLUSÃO

Cremos que em todos esses casos em que o parasitismo provoca reações mais ou menos intensas dos tecidos de seus hospedeiros, seja com processos de fibrose, seja com neoplasias benignas ou malignas, etc., são vários os fatores que entram em jogo, uns dependentes direta ou indiretamente do parasito e outros na dependência do próprio hospedeiro.

E' claro que, num ou noutro caso, um dêsses fatores toma papel de capital importância, mas, si bem analisarmos, veremos que os demais não deixam de ter sua influência no processo. O que não podemos fazer é analizar um caso particular e generalizar quanto aos demais.

No caso que ora estudamos, o aparecimento de tumorações no estômago da anta parasitada pelo *Physocephalus nitidulans*, resultante de proliferação exagerada do tecido conjuntivo submucoso, acompanhada de certo grao de hipertrofia e hiperplasia dos ácinos glandulares, deve ter sido condicionado principalmente:

a — pelas lesões mecânicas provocadas pelo parasito, que consequentemente à destruição do tecido são, determinaram o aparecimento de um processo cicatricial, que se processou de maneira exagerada;

b — pela presença do parasito introduzido na parede do estômago, atuando como verdadeiro corpo estranho, tendo como consequência o desenvolvimento do tecido de granulação;

c — pelo processo irritativo desempenhado pelas infecções bacterianas secundárias, que se instalaram sobre as ulcerações da mucosa, determinando processo supurativo intenso, de que são sede os ditos nódulos;

d — pelas secreções tóxicas do próprio parasito. No caso presente êste fator parece ter agido com menor intensidade, pois em porcos parasitados pelo *Physocephalus sexalatus*, parasito muito afim do *P. nitidulans*, o processo é bem mais discreto; além disso não conseguimos encontrar nos cortes histológicos das tumorações a eosinofilia que é peculiar aos casos de helmintíases.

## FIBROUS REACTION OF THE STOMACH WALL OF "TAPIRUS AMERICANUS" DETERMINED BY "PHYSOCEPHALUS NITIDULANS (SCHNEIDER, 1866)" (NEMATODA : SPIRURIDAE)

*Abstract*

*In this paper the fibrous reaction of the walls of the stomach of Tapirus americanus, when parazitised by Physocephalus nitidulans (SCHNEIDER, 1866), as demonstred by the formation of relatively voluminous tumorations, is studied and discussed.*

*The reaction is rendered evident by the exaggeradet proliferation of the stomachic sub-mucous conjunctive, followed by relative hypertrophy and hyperplasy of the glandular acini. This reaction is supposed to be determined principally:*

*a) — by mechanic lesions enduced by the parasite, determining the cicatricial process, as a consequence of the destruction of normal tissue. In this case the process was exaggerated;*

*b) — by the presence of the parasite partly inserted into the stomach wall and acting as an extraneous body;*

*c) — by the irritative process determined by secondary bacterian infections, verified on the ulcerations of the mucose, as shown by the intense supurative process of the nodes;*

*d) — by the toxic secretions of the parasite itself. In the present case this factor is believed to have acted less intensely because in the case of pigs infested with Physocephalus sexalatus (a species very closely related to P. nitidulans), the process is much more discrete. Besides, we failed to detect in the histological section of the tumorations, the eosinophilia habitually found in helminthiasis.*

### BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, C. W.(*) — 1921 — Réactions neoplasiques provoquées par les helminthes. Leurs rapports avec le problème du cancer. Jouve et Cie. Paris.

BAYLIS, H. A. — 1929 — *A manual of Helminthology.* Ballière, Tindall and Cox. London, 227-236.

BLUMBERG, H. & R. E. GARDNER — 1940 — Adematous stomach lesion of the rat associated with heavy Cysticercus fasciolaris infestation. *Proc. Exp. Biol. and Med.* 95, 673-677.

BRUMPT, E. — 1930 — Rôle des bilharzies dans la production de certains cancers. Étude critique a propos d'un cas nouveau. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 8, 75-101.

BRUMPT, E. — 1930 — Muspicea borreli Sambon, 1925 et cancers de souris. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 8, 309-343.

CIUREA, J. — 1912 — Über Spiroptera sexalata Molin aus dem Magen des Hausschweines. *Zool. Jahrb.* 32, 285-294.

Dévé, F. — 1930 — Kyste Hydatique et cancer. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 8 (3/4), 437-449.

Ferguson, A. R. — 1911 — Associated bilharziosis and primary malignant disease of the urinary bladder. *Jour. Path. and Bact. Cambridge.* 16, 76-94.

Fibiger, J. — 1913 — Sur le développement de tumeurs papillomateuses et carcinomateuses dans l'estomac du rat sous l'action d'un ver nématode. *La Troisième Conférance Internationale pour l'étude du cancer.* Bruxelles, 1-11.

Fibiger, J. — 1918 — Investigations on the spiroptera cancer III. On the transmission of Spiroptera neoplastica (Gongylonema n.) to the rat as a method of producing cancer experimentally. *Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser.* 1 (9), 1-30.

Fibiger, J. — 1918 — Investigations on the spiroptera cancer IV. Spiroptera cancer of the tongue in rats. *Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser.* 1 (10), 1-35.

Fibiger, J. — 1918 — Investigations on the spiroptera cancer V. On the growth of small carcinomata and on predisposition to spiroptera cancer in rats and mice. *Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser.* 1 (11), 1-27.

Fibiger, J. — 1919 — Investigations on the spiroptera cancer. VI. A transplantable spiroptera carcinoma of the mouse. *Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser.* 1 (14), 1-17.

Franchini, G. — 1926 — Tumori umani e sperimentali da parassiti animali in Neoplasmi (lezioni tenute per iniziativa dell'Instituto Sieroterapico Milanesi dai Professori Barbacci, Truffi, Franchini, Sanfélice, Pentimali, Fichera, Sachs e Rondini). Publicato per cura dell'*Instituto Sieroterapico Milanesi,* 111-149.

Hsü, H. F. & R. Hoeppli (*) — 1940 — Histological changes caused by Metorchis orientalis in the bile duct system of experimentally infected ducks. *Chin. Med. Journ. Suppl.* 3, 228-234.

Krumbhaar, E. B. — 1925 — Experimental cancer, an historical retrospect. *Studies from the Laboratories of Philadelphia General Hospital.* 3, 132-140.

Leonard, A. B. & A. E. Leonard — 1940 — The cellular proliferation associated with Cysticercus infestations in cottontail rabbit. *Trans. Kansas Acad. Sci.* 43, 429-431.

Lewin, C. — 1928 — Die *Ätiologie der bösartigen Geschwülste.* Verlag von Julius Springer. Berlin, 82-119.

Massia, G. & L. Morenas — 1930 — Fibro adenome biliaire à type précancereux de mouton douvé. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 8, 165-170.

Neveau-Lemaire, M. — 1936 — Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire. Vigot Frères, Éditeurs. Paris, 1230-1234.

Pereira, C. & R. Cuoculo — 1941 — Processo papilomatoso das vias biliares de Leptodactylus ocellatus (L.), determinado por Choledocystus eucharis n. g., n. sp. (Trematoda: Plagiorchiidae). *Arq. Inst. Biol.,* São Paulo. 12, 311-324.

Pinto, C. — 1928 — *Zoo-parasitos de interêsse médico e veterinário.* Pimenta de Mello & Cia. Rio de Janeiro, 257.

Railliet, A. & A. Henry — 1911 — Helminthes du porc recueillis par M. Bauche en Annam. *Bull. Soc. Path. Exot.* 4, 693.

Schneider, A. — 1866 — *Monographie der Nematoden.* Berlin, 97-98.

SCHULZ, R. E. — 1927 — Zur Kenntnis der Helminthenfauna der Nagetiere der Union S. S. R. II Spirurata Raill. et Henry. (em russo, com resumo em alemão). *Trud. Inst. Exper. Vet. Moscow.* 4, 31-60.

SOROUR, M. F. — 1929 — Contribution a l'étude des tumeurs irritatives bénignes et malignes produites par les bilharzies. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 7, 381-398.

SOUROR, M. F. — 1930 — Preuve statistique de l'association de la bilharziose avec les tumeurs malignes dans le corps humain. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 8, 610-614.

SPREHN, C. E. W. — 1932 — *Lehrbuch der Helminthologie.* Verlag von Gebrüder Borntraeger. Berlin, 602-606.

STOSSICH, M. — 1898 — Filaria e spiroptera. Lavoro monografico. *Boll. Soc. Adriat. di Sc. Nat. in Trieste.* 18, 13-162.

TIBIRIÇÁ, P. — 1934 — Sarcoma do fígado de rato, produzido por Cysticercus fasciolaris, com referências às relações entre helminthos e cancer. *Ann. Fac. Med. Univ. São Paulo.* 10, 175-195.

TRAVASSOS, L. — 1928 — Note sur la sous-famille Arduenninae Railliet et Henry, 1911. *C. r. d. Sc. Soc. Biol.* Paris. 99, 875.

VAZ, Z. — 1935 — Lesões produzidas no estômago de cobras por um novo nematoide — Ophidascaris trichuriformis n. sp. *Arch. Inst. Biol.*, São Paulo. 6, 41-44.

WOGLOM, W. H. — 1913 — Studies in cancer and allied subjects. The study of experimental cancer. Columbia University Press. New York, 183-226.

YORKE, W. & P. A. MAPLESTONE — 1926 — The nematode parasites of vertebrates. J. & A. Churchill. London, 308-309.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 36

Fig. *A* — Corte de tumor do estômago de anta visto com pequeno aumento, notando-se o helminto apanhado longitudinal e transversalmente; ao redor dele verifica-se espesso manguito de piocitos. (A. Federman fot.).

Fig. *B* — Corte transversal do helminto visto com grande aumento no interior de um nódulo do estômago separado do tecido conjuntivo do nódulo por espessa camada de polimorfo-nucleares neutrófilos. (A. Federman fot.).

### Estampa 37

Fig. *C* — Corte de um nódulo visto com grande aumento, notando-se o conjuntivo intensamente proliferado, em cujo meio se notam vasos de neoformação e elementos inflamatórios. (B. Mazza fot.).

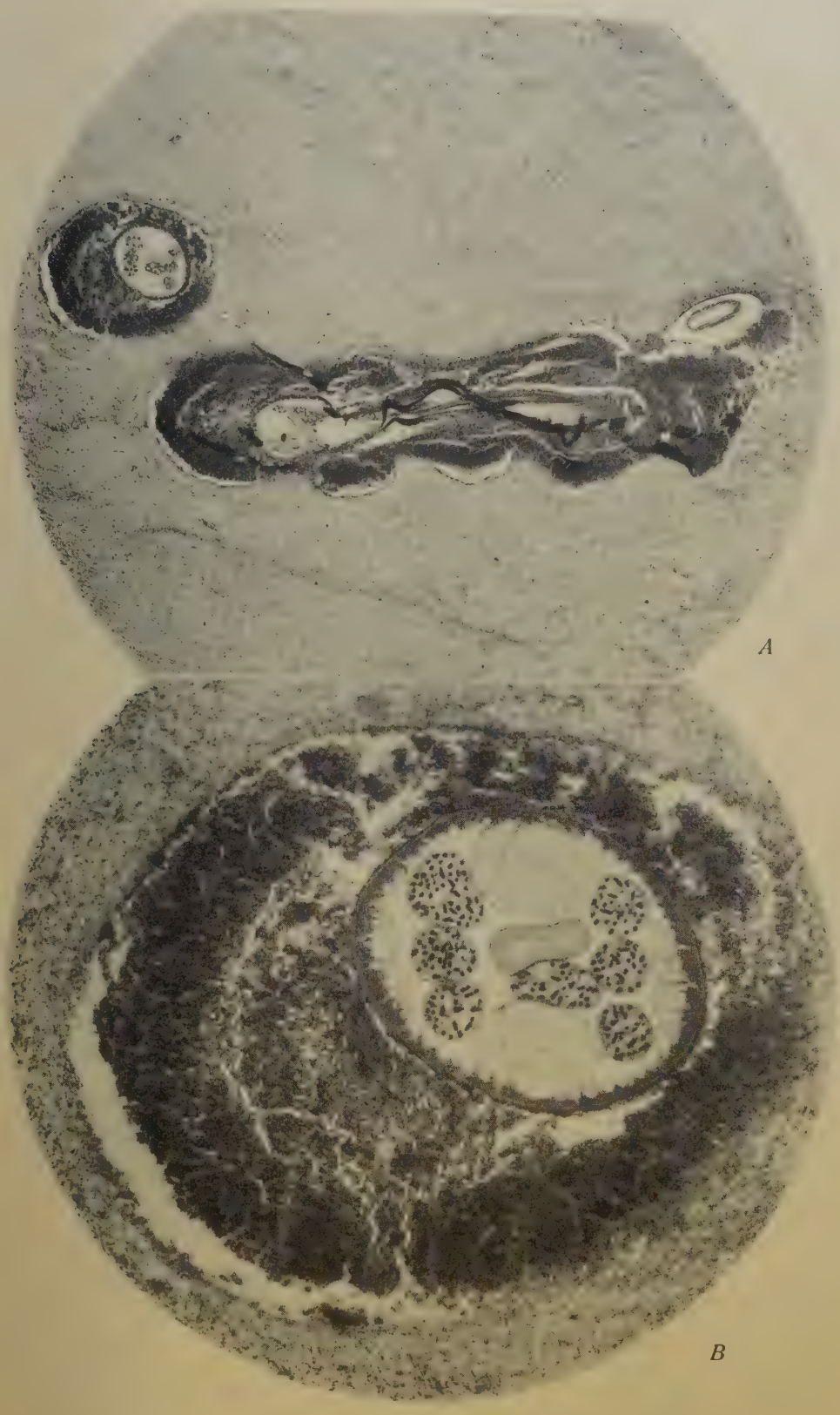
Fig. *D* — Aspéto semelhante ao da figura anterior. (A. Federman fot.).

Fig. *E* — Grande número de elementos inflamatórios, particularmente polimorfo-nucleares neutrófilos de micro-abcesso formado no interior de um nódulo fibroso, a distância do ponto de implantação do helminto, traduzindo processo de infecção bacteriana que seguramente se deu por via hematogênica. (A. Federman fot.).

Fig. *F* — Aspéto semelhante ao da figura anterior, contudo mais característico por ser menos difuso. (A. Federman fot.).

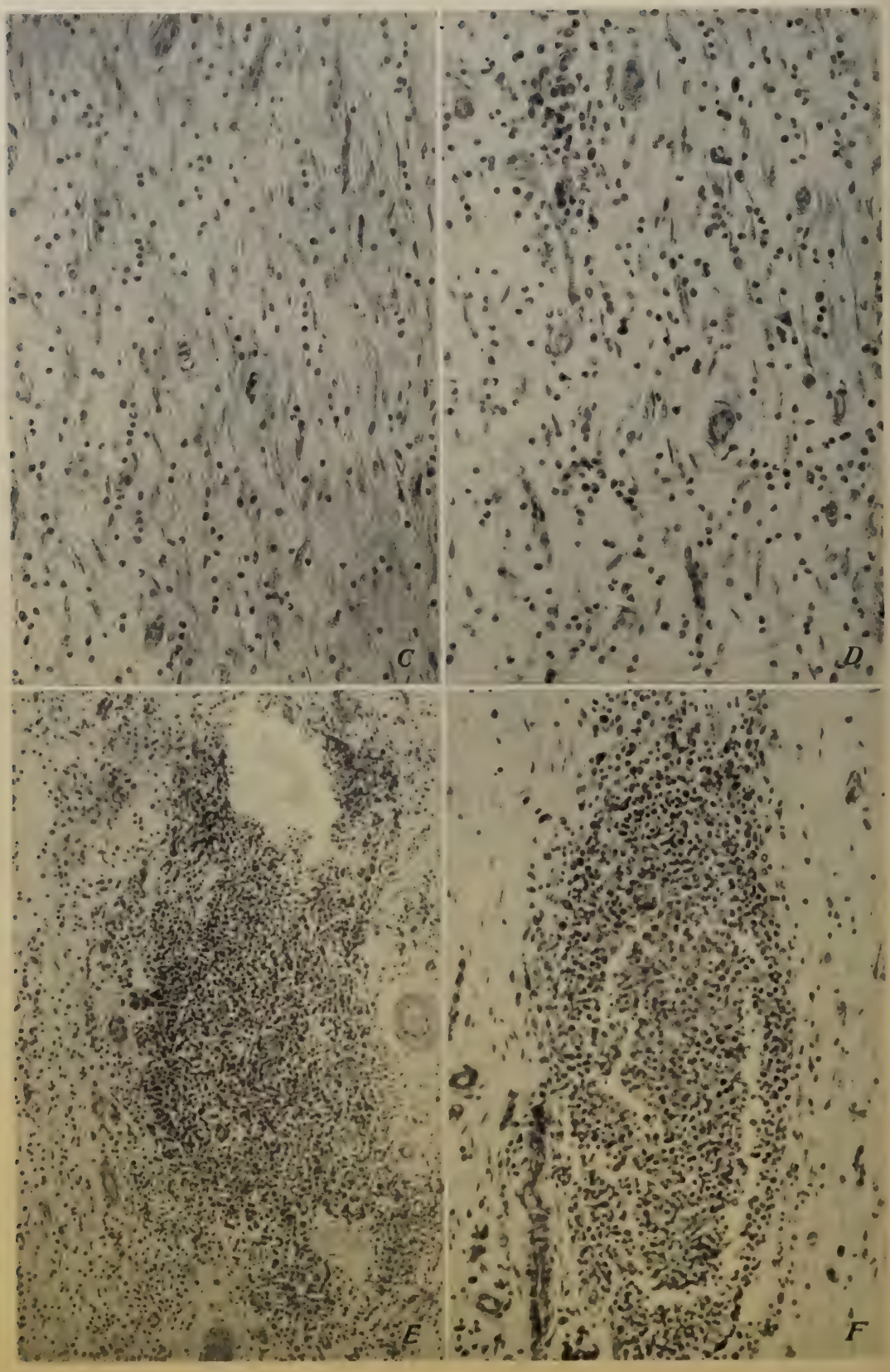
---

(*) Não consultado o original.



*A*

*B*


C
D
E
F

Vol. 13 — Art. 25 Dezembro de 1942

# SOBRE OVOS NÃO FECUNDADOS E PSEUDO-OPERCULADOS DE "ASCARIS LUMBRICOIDES L., 1758" (NEMATODA: ASCARIDAE)

POR

R. Cuocolo e M. J. Mello

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 17 figuras no texto e estampa 38

Em 27 de fevereiro deste ano tivemos ocasião de efetuar, sob n.º 3.203 de nosso registro, o exame de fezes da menina W. P., de dois anos de idade.

Havia dias que a paciente estava atacada de intensa diarréia, e o clínico aconselhara o exame bacteriológico e parasitológico das fezes, para orientação do tratamento. O exame bacteriológico foi de resultados negativos, enquanto o parasitológico revelou grande infestação de *Trichuris* e abundantes ovos de *Ascaris* não fecundados. Não se constatou a presença de protozoários a que se pudesse atribuir o estado mórbido. As fezes eram de consistência quasi líquida e coloração amarelo-escura, sem sangue nem muco.

Ao lado dos ovos de *Trichuris* e de *Ascaris* não fecundados encontramos outros, de dimensões relativamente maiores que os de *Ascaris* não fecundados, e providos exclusivamente de duas membranas, uma interna, escura, de duplo contorno, e outra externa, clara e consideravelmente mais espessa; isso não seria razão para dúvidas, pois, atendendo ao seu grande comprimento, podiamos admitir tratar-se desde logo de ovos não fecundados de *Ascaris*, que tivessem perdido completamente o seu envoltório externo, constituido pela membrana mamelonada albuminoide, seja pelo atrito sofrido entre lâmina e lamínula, seja pelas condições em que tivessem sido eliminados, ou por qualquer outra razão. Contudo, esses ovos não apresentavam completo o seu envoltório espesso, sim interrompido, às vezes em um dos polos, com muito maior frequência, porém, ao nivel de ambos os polos. Essa interrupção era bem regular e desenhada com tanta nitidez e frequência em todos os ovos examinados, que simulava perfeitamente a existência de um ou dois opérculos.

As fezes foram fixadas, e pediu-se novo material para exame, que nos foi entregue a 3 de março, época em que já haviam serenado os distúrbios intestinais da paciente. O exame de tais fezes, feito sob n.º 3.212, revelou apenas a existência de grande quantidade de ovos de

*Trichuris* e de *Ascaris*, estes não fecundados, não se constatando mais a presença de ovos com "opérculos".

Em face dos exames feitos, e atendendo ao tamanho e morfologia de tais ovos, admitimos que também êles fossem de *Ascaris*.

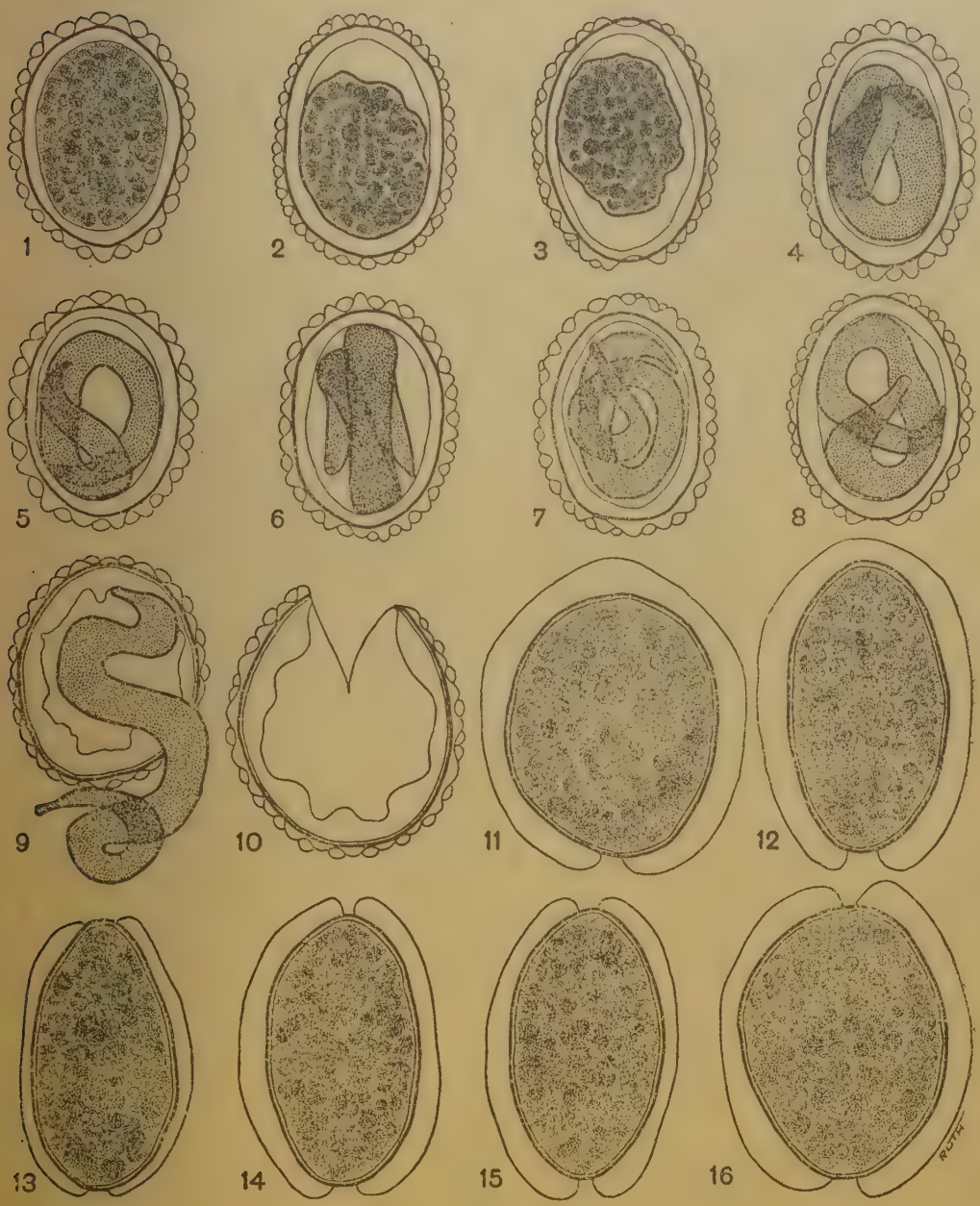
A 13 de março fomos novamente procurados pelo interessado no exame, que nos trouxe um exemplar de fêmea adulta de *Ascaris lumbricoides* L., 1758, eliminado pela paciente.

Aproveitamos a oportunidade para examinar no útero desse exemplar a morfologia de seus ovos e aí, tanto em porções próximas como afastadas do ovejector, encontramos vários ovos com dois envoltórios apenas e dotados de interrupções polares na membrana mais externa. Tal achado, além de comprovar nossa primeira hipótese, veio demonstrar que esses ovos já eram desprovidos do envólucro albuminoide antes de serem eliminados, e que portanto não o perdiam posteriormente por qualquer outra razão.

Para melhor compreensão do mecanismo desta interessante anomalia, será conveniente que recapitulemos o mecanismo de formação dos envoltórios da casca de ovos de *Ascaris lumbricoides*, segundo RAILLIET, 1895. Quando os óvulos atingem o útero, por meio dos oviductos, são revestidos por uma quantidade relativamente abundante de vitelo e apresentam forma ovoide. Chegados ao útero, são logo envolvidos por uma primeira membrana delgada; esta, com o progredir dos ovos no útero, vai-se desdobrando, resultando finalmente em uma membrana interna fina, mas muito resistente, e outra mais externa, consideravelmente mais espessa, porém friavel, apresentando uma estriação concêntrica muito delicada. Na última porção do útero os ovos recebem finalmente mais um envólucro, constituido por substância albuminoide e que assume forma irregularmente mamelonada.

Este último envoltório, como assinala BRUMPT, 1936, frequentemente se destaca completa ou incompletamente, ficando em tais condições os ovos de *Ascaris* envolvidos apenas por duas membranas, com ou sem restos de membrana albuminoide. Muitas vezes o envoltório albuminoide se vai destacando espontaneamente no meio ambiente, à medida que o ovo prossegue no seu desenvolvimento, mas êle se destaca mais frequentemente quando sujeito a atritos. Assim, é relativamente comum que no decorrer do exame de fezes a simples pressão exercida pela lamínula destaque em parte ou totalmente esse revestimento.

Os ovos por nós encontrados, além de apresentarem apenas dois envoltórios membranosos desde o momento da postura, exibiam uma, ou mais frequentemente duas interrupções regulares ao nivel dos polos, interessando à membrana situada mais externamente, o que comuni-




*Ascaris lumbricoides* L., 1758. Figs. 1 e 2 — Ovos fecundados com seus três envoltórios típicos. Fig. 3 — Ovo fecundado com os três envoltórios da casca, apresentando duas falhas polares na membrana albuminoide, que grosseiramente simulam opérculos. Figs. 4 a 7 — Ovos larvados com seus três envoltórios íntegros. Fig. 8 — Ovo larvado com falhas polares na membrana albuminoide. Fig. 9 — Larva abandonando a casca. Fig. 10 — Casca de ovo com abertura em cunha por onde saiu a larva. Figs. 11 e 12 — Ovos não fecundados com apenas dois envoltórios da casca e falha polar que simula um opérculo. Figs. 13 a 16 — Ovos não fecundados apresentando apenas dois envoltórios da casca, interrompidos ao nível dos polos, simulando opérculos.

cava a tais ovos a aparência de serem operculados; além disso, alguns exemplares desses ovos apresentavam, na membrana interna, uma ligeira depressão em correspondência com as falhas polares da membrana externa, o que mais reforçava a simulação de opérculos.

Tivemos ocasião ainda de examinar grande número de ovos fecundados e ovos embrionados de nossa coleção, constatando entre estes tambem, si bem que com extrema raridade, exemplares em que falhas ou depressões nos envoltórios semelhavam opérculos. Nestes ovos, as falhas tambem se verificavam ao nivel dos polos, localizando-se entretanto na membrana albuminoide, com depressões correspondentes ao nível da membrana média hialina. Neste caso, contudo, pode-se admitir que essas falhas tenham sido ocasionais e decorrentes de atritos ou qualquer outro acidente que os ovos tenham sofrido no meio ambiente ou no decorrer da manipulação do preparado, ao passo que no caso por nós estudado pode-se afirmar que os ovos já apresentavam os pseudo-opérculos ao serem expelidos, pois foram observados mesmo quando cuidadosamente extraídos do útero.

Pode-se admitir que no material por nós estudado não se tenha dado perfeito e completo desdobramento da membrana primitiva dos ovos e que estes, devido às perturbações intestinais da paciente, tiveram uma eliminação precoce por parte da fêmea.

Sabe-se que os ovos não fecundados de *Ascaris* apresentam dimensões por vezes consideravelmente maiores do que os fecundados, em particular no que diz respeito ao seu maior eixo, o que os torna mais longos e relativamente mais estreitos. Em nosso caso, tambem, os ovos não fecundados, apezar de serem desprovidos do envoltório albuminoide, apresentavam dimensões superiores às dos ovos normais fecundados.

Dividindo o útero em várias porções e examinando os ovos nelas contidos, tivemos ocasião de observar que estes vão aumentando de tamanho à medida que se deslocam no útero, em direção ao ovejector, para decrescerem novamente nas proximidades do ovejector, quando recebem o último envólucro da casca; ao serem eliminados, suas dimensões são consideravelmente menores que as apresentadas nos ramos anteriores.

Para explicar essa diminuição nas dimensões dos ovos podemos aventar várias hipóteses; em primeiro lugar, o aproveitamento do vitelo seria uma das razões, pois nos ovos não fecundados, em que o vitelo não é aproveitado, as dimensões são maiores; em segundo lugar, a membrana externa albuminoide deve sofrer um processo de retração, pois nos ovos que são eliminados sem esse envólucro as dimensões per-

manecem particularmente avantajadas em relação aos ovos dotados dos tres componentes da casca.

Para fazer-se uma ideia mais clara das relações entre as dimensões dos ovos fecundados e as dos não fecundados medimos 400 ovos divididos em quatro categorias: 1) ovos não fecundados, mas

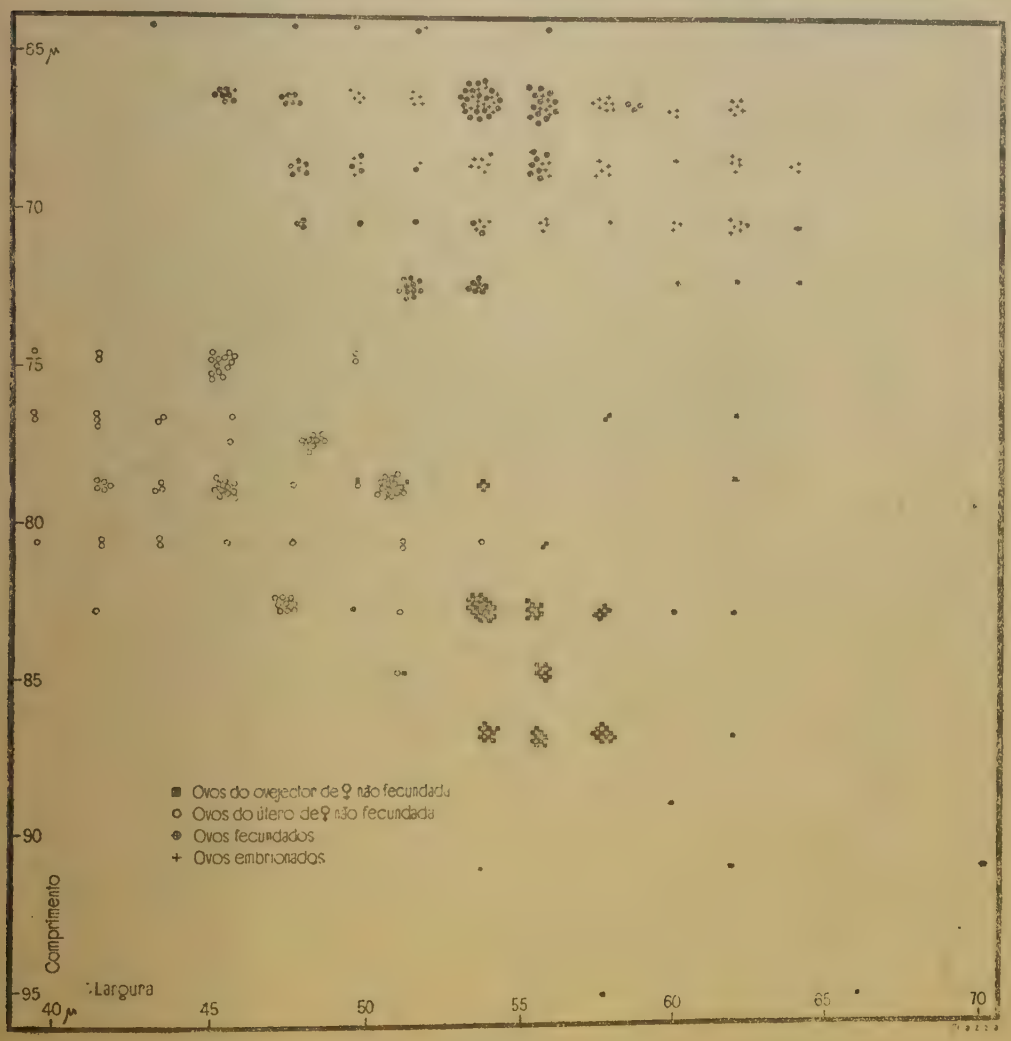



Fig. 17

com envoltório médio perfeitamente constituido, apanhados no útero; 2) ovos não fecundados, sem membrana albuminoide, localizados próximo ao ovejector; 3) ovos fecundados, mas não embrionados, e finalmente, 4) ovos embrionados.

Como se depreende do gráfico (fig. 17) e das tabelas 1 e 2, os ovos não fecundados e com dois envólucros apenas, são consideravelmente mais volumosos que os ovos fecundados e providos das tres

TABELA 1

Dimensões dos ovos fecundados (em micra)

| Não embrionados (N = 100) | | Embrionados (N = 100) | |
|---|---|---|---|
| Comprimento | Largura | Comprimento | Largura |
| 68,16 ± 0,23 (64,17 — 72,45)* | 50,38 ± 0,33 (43,47 — 55,89) | 67,91 ± 0,09 (64,17 — 72,45) | 56,46 ± 0,46 (45,54 — 64,17) |

TABELA 2

Dimensões dos ovos não fecundados (em micra)

| Longe do ovejector (N = 100) | | Próximo ao ovejector (N = 100) | |
|---|---|---|---|
| Comprimento | Largura | Comprimento | Largura |
| 77,49 ± 0,29 (74,52 — 84,87) | 45,68 ± 0,42 (39,33 — 55,89) | 81,63 ± 0,37 (76,59 — 95,22) | 56,95 ± 0,36 (49,68 — 70,38) |

* A média das medidas é sempre seguida de seu êrro standard, com as medidas extremas entre parêntesis.

membranas da casca, decorrendo tal aumento de volume dos ovos não fecundados principalmente do avantajamento do diâmetro bipolar. Outrossim, pode-se verificar que as diferenças de dimensões entre os ovos simplesmente fecundados e os ovos embrionados são relativamente discretas, notando-se que ha um ligeiro aumento do diâmetro bipolar nos não embrionados, ao passo que estes teem o diâmetro transverso menor do que aqueles.

## ON THE NON FECUNDATED AND PSEUDO-OPERCULATED EGGS OF "ASCARIS LUMBRICOIDES L., 1758" (NEMATODA: ASCARIDAE)

*Abstract*

*In this paper Ascaris' eggs are described which were not fecundated and presented only two envelopes with false-opercula on the outer one.*

*A comparison is made between fecundated and non-fecundated eggs, the former being admitted to be disminished in size by two reasons: 1) exhaustion of the yolk, and 2) retraction of the albuminoid membrane.*

*A graph (Fig. 17) and two tables for the comparative study of the measures are presented.*

## BIBLIOGRAFIA

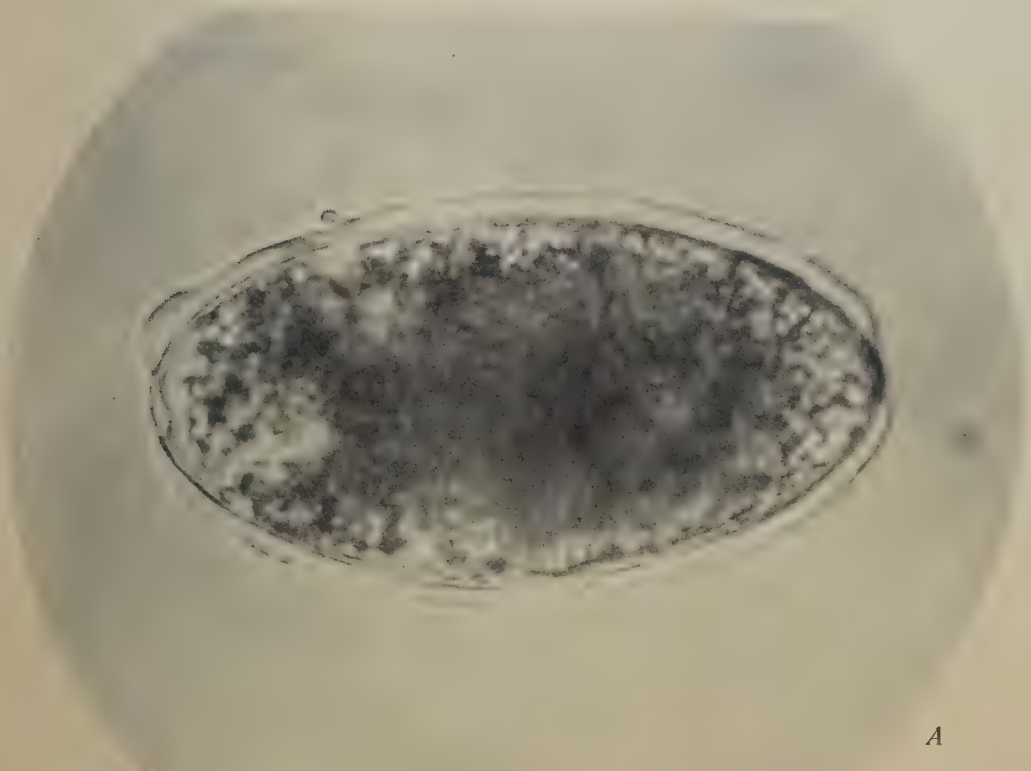
BRUMPT, E. — 1936 — *Précis de Parasitologie.* 5e. édition. Masson et Cie. Éditeurs. Paris. 850-852.

RAILLIET, A. — 1895 — *Traité de Zoologie Médicale et Agricole.* 2e. édition. Asselin et Houzeau. Paris. 397-398.

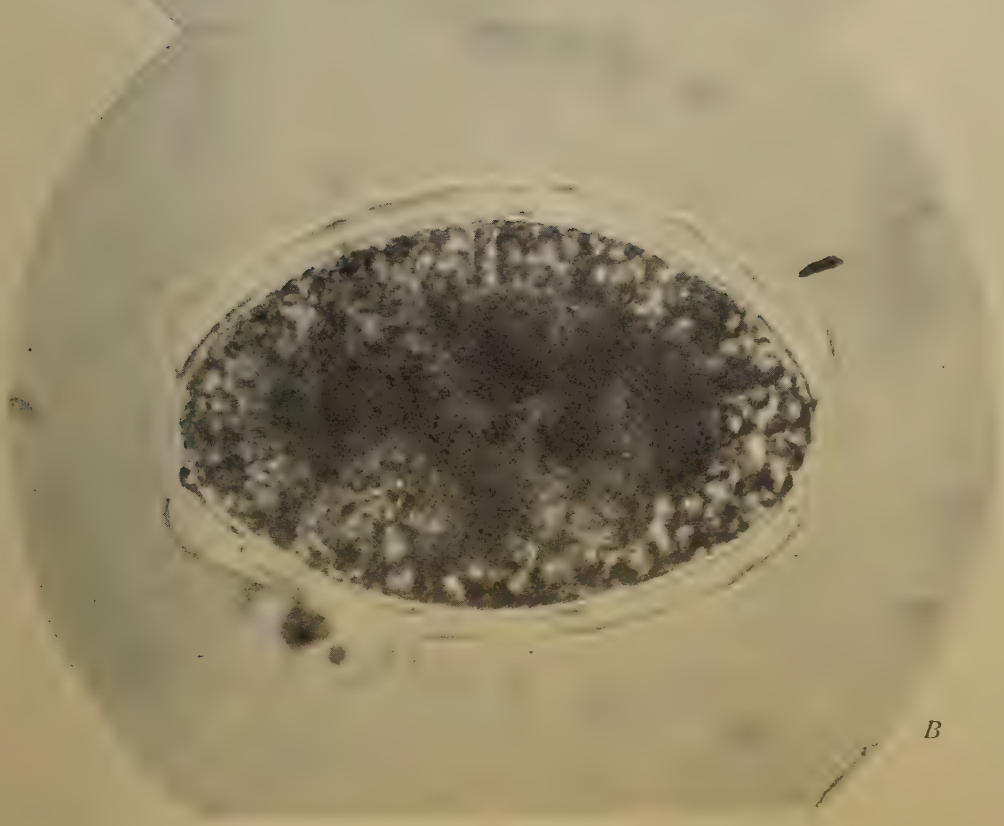
## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 38

Figs. *A* e *B* — Microfotografias de ovos não fecundados de *Ascaris lumbricoides* L., 1758, desprovidos do envoltório albuminoso da casca e apresentando interrupções polares na membrana hialina média que simulam grosseiramente opérculos.

(A. Federman fot.)



*A*



*B*

Vol. 13 — Art. 26

Dezembro de 1942

# HISTOPATOLOGIA DOS GANGLIOS LINFÁTICOS NA BRUCELÓSE SUINA

POR

P. Bueno

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com a estampa 39

Excetuando-se a observação de McNUTT, que descreveu sumariamente lesões dos ganglios linfáticos encontradas em alguns casos de Brucelóse suina experimental, e a de CREECH, que as assinalou em um caso de infecção espontanea, nada revela a literatura acerca de estudos sistemáticos ou isolados, feitos com o fim de estabelecer conhecimentos exatos sobre as alterações morfológicas daqueles orgãos linfóides em consequência da infecção brucelica. Por tal motivo foi nossa atenção dirigida nesse sentido, e os resultados obtidos pareceram-nos interessantes e capazes de contribuir para o estabelecimento de bases que se prestem para o diagnóstico histopatológico da doença.

Devemos assinalar que não nos preocupámos exclusivamente com a procura de um quadro histopatológico próprio da Brucelóse, mas especialmente com a verificação de possiveis variações das lesões observadas no decurso da doença, que, como se sabe, tem um carater crônico, durante o qual se desenvolvem processos intermitentes de exacerbação.

Procurámos assim estudar o quadro histopatológico durante todo seu desenvolvimento ou pelo menos em grande parte dele. Observámos casos espontaneos e experimentais; dêstes últimos, principalmente, é que colhemos dados para o estudo do desenvolvimento do processo. Para isso, infectámos suinos, machos e fêmeas, de várias idades, que foram depois sacrificados em vários períodos da evolução da doença desde os mais curtos aos mais espaçados, como o foi, por exemplo, o caso de uma das fêmeas que foi sacrificada sómente após o segundo abôrto. Como vias de contaminação, usámos a oral e a subcutânea. Empregámos culturas de amostras de *Brucella suis* 598 e 6.962 S. E. em agar sangue fígado a 37° - 48 h. As culturas eram emulsionadas em água fisiológica e a emulsão injetada subcutaneamente, ou misturada ao leite e administrada aos animais. Os suinos infectados por via oral receberam material contaminado por duas ou três vezes, com intervalos de alguns dias, enquanto a infecção por via parenteral foi feita uma única vez.

Os animais portadores da doença espontanea foram obtidos de criações onde a infecção se demonstrara pelo aparecimento de abôrtos em série e pela prova de aglutinação (1).

Embora o fim principal de nossas pesquizas fosse conseguir conhecimentos exatos das alterações morfológicas desenvolvidas nos ganglios linfáticos, julgamos de interesse relatar algumas observações, que tivemos oportunidade de fazer, com relação à epidemiologia da doença.

Merece referência especial uma primeira observação acerca da possibilidade de haver parições a termo, de porcas infectadas natural ou experimentalmente, tendo como resultado o nascimento de leitões aparentemente normais e que, no entanto, morrem com alguns dias (2) ou mesmo semanas de idade, ao lado de outros que conseguem sobreviver. O exame dos ganglios linfáticos de todos esses animais, quer mortos espontaneamente, quer sacrificados em períodos variaveis, revelou sempre a existência de alterações idênticas às encontradas nos animais com infecção experimental ou espontanea. A contraprova, por inoculação em cobaias, revelou-se positiva em alguns casos.

Por outro lado, o exame de porcas que haviam tido gestação normal após um ou mais abôrtos e que conseguiram criar normalmente todos os filhos, demonstrou serem elas tambem portadoras de graves lesões, denotando a existência de severa infecção pela Brucela.

Essas observações demonstram a existência de um grave problema na epidemiologia da doença, ou seja a ocurrência de infecções inaparentes, não só em animais adultos como em leitões, o que pode constituir a causa de insucesso na erradicação da molestia, uma vez que a prova da aglutinação, comumente usada para tal fim, é de resultados muito pouco satisfatórios e na maioria das vezes falha, pelo menos segundo nossas verificações. Observámos muitos animais infectados experimentalmente e tambem com infecção natural, tendo muitas vezes abôrtos em série, para os quais, no entanto, a prova da aglutinação sempre se revelou negativa. Esses fatos demonstram de maneira convincente a necessidade de um método de diagnóstico mais seguro para a Brucelóse suina.

Não nos deteremos mais nessas questões epidemiológicas, com as quais nos deparámos casualmente, e passaremos à exposição do tema que nos interessou mais de perto:

## O ESTUDO DAS LESÕES GANGLIONARES

Estas foram pesquizadas em 36 animais com infecção espontanea e experimental, cujos ganglios submaxilares, retrofaringianos, pre-escapulares, mesenteriais, portais e inguinais foram estudados sistematicamente.

As lesões anatomopatológicas encontradas eram representadas sempre por uma forte tumefação dos ganglios, que em geral se mostravam um pouco mais pálidos e em alguns casos com hemorragias, localisadas de preferência nas porções corticais. Pequenos fócos de necrose foram raramente observados.

---

(1) As provas de aglutinação foram feitas pelo Dr. E. Trapp, a quem muito agradecemos.
(2) Köbe (D. T. W. 1935. 43. 545) fez observação semelhante em leitões filhos de porcas infectadas pela *B. abortus*.

As alterações histológicas, quer nos casos espontâneos, quer nos experimentais, revelaram-se idênticas; por outro lado, mostraram-se até certo ponto variaveis, conforme o período de evolução da doença. Este fato nos obrigou a dividir o material de estudo, segundo as lesões observadas, em três grupos, o primeiro, constituido pelos animais que sucumbiram em consequência da infecção, o segundo, pelos que, após infectados, mantiveram a infecção em estado de latência, tendo alguns tendência à cura, e finalmente, o terceiro pelos que tiveram exacerbações do processo ocasionadas pela ocurrência de abôrtos.

A descrição das observações histológicas em grupos foi feita para facilidade de exposição, pois na realidade, como se poderá observar pelo seu estudo, não ha limites nítidos entre êles; o que se verifica, em geral, é a ocurrência de certas lesões de modo mais ou menos acentuado, conforme o agrupamento, dependendo naturalmente do período de evolução da doença.

O quadro histológico do primeiro grupo foi estudado em animais com infecção espontânea e experimental. Como lesões observadas, focalizaremos a rarefação do tecido linfoide, a infiltração de eosinofilos e neutrofilos, as necroses, a presença de gigantocitos e o catarro endotelial como consequência da irritação do reticulo-endotelio, as alterações vasculares e as hemorragias. Passemos ao seu estudo:

Rarefação do tecido linfoide — Nestes casos mostrou-se, às vezes acentuada, uma rarefação do tecido linfoide, principalmente nas porções perifericas dos ganglios, ocasionada pelo desaparecimento dos foliculos. Essa alteração, no entanto, apareceu com muito maior intensidade nos casos do segundo grupo, razão pela qual dela trataremos com detalhes por ocasião do seu estudo.

Infiltração por leucocitos eosinofilos e neutrofilos — E' muito nitida a infiltração do tecido ganglionar por eosinofilos, que aparecem ora difusamente, ora constituindo verdadeiros micro-abcessos, junto aos quais não é raro encontrarem-se celulas reticulares carregadas de granulações eosinofilicas. Por outro lado, mostrou-se algumas vezes acentuada a infiltração de leucocitos neutrofilos, que apareciam tambem de modo difuso ou formando micro-abcessos e quasi sempre em conjunto com os eosinofilos.

Necróse em fócos. Formação de gigantocitos — Em sequência à formação dos referidos micro-abcessos, observámos, em dois casos, necróse do infiltrado e em alguns pontos, ao seu redor, aparecimento de gigantocitos, com citoplasma bem desenvolvido e com nucleos localisados na periferia ou dispostos irregularmente em todo o corpo celular. (Estampa 39, fig. *A*). Estes gigantocitos foram encontrados não sómente em torno destes fócos, mas tambem dispersos no tecido ganglionar e junto aos condutos linfáticos peritrabeculares. Verificámos em outros pontos, fócos de necróse do tecido ganglionar, sem que no entanto aí se tivesse desenvolvido um infiltrado inflamatorio. São necróses miliares, interessando o tecido reticular onde já se déra a rarefação linfoide. No centro desses fócos é nítida a infiltração eosinofilica, e ao lado deles deparam-se vasos fortemente hiperemicos e com as paredes hialinizadas ou em necróse. (Est. 39, fig. *B*).

Alterações do reticulo-endotelio — Devemo-nos referir tambem a uma alteração que acompanha as lesões descritas, representada por uma fórte descamação das celulas endoteliais dos seios linfaticos. A irritação das celulas reticulo-endoteliais não se demonstrou sómente pelo desenvolvimento deste catarro endotelial, mas ainda pela tumefação das mesmas celulas, pela formação dos gigantocitos aos quais já nos referimos e por uma acentuada ação fagocitaria traduzida pelo aparecimento, em alguns casos, de grande número de figuras de eritrofagocitose.

Lesões vasculares — Hemorragias — O fenômeno da eritrofagocitose naturalmente sucede ao desenvolvimento de hemorragias, que se dão em várias partes dos ganglios, porém, com maior frequência nas porções corticais e junto aos fócos de necróse. Estas hemorragias se revelaram relativamente frequentes nestes casos, e conforme pudemos observar, são consequentes à rutura de capilares alterados. O quadro destas lesões vasculares é representado de inicio por tumefação das celulas endoteliais, hialinisação das paredes, e por fim pela necróse delas com consequente estravasamento de hemacias (Est. 39, fig. *C*).

Ocupemo-nos agora das alterações encontradas nos animais que reunimos no segundo grupo, ou seja nos em que a infecção não provocou lesões tão graves, permitindo uma reação por parte do organismo, que assim a manteve em latencia, ou às vezes, com tendência à cura.

Como alterações assinaladas consideraremos a aplasia do tecido linfoide, a proliferação reticular consequente à primeira, a eosinofilia, as lesões vasculares e as de tipo regenerativo.

Aplasia do tecido linfoide — Já assinalámos, como lesão ocorrendo nos casos do primeiro grupo, uma rarefação do tecido linfoide, principalmente nas porções perifericas dos ganglios, desenvolvendo-se consequentemente ao desaparecimento dos foliculos. Pois bem, nos animais pertencentes a este grupo, a lesão foi encontrada da maneira mais nitida, chegando em estadios mais avançados a uma quasi completa aplasia do tecido linfoide, com persistência exclusiva das malhas reticulares do ganglio. (Est. 39, fig. *D*). Essa alteração, que em geral se apresenta de tal modo acentuada que praticamente domina o quadro histológico, é representada, a principio, por um nitido desenvolvimento dos centros germinativos dos foliculos linfoides e em seguida pelo seu completo desaparecimento em consequência de uma intensa proliferação reticular na periferia. As preparações impregnadas pela prata mostram nestes casos um quadro muito demonstrativo da natureza do processo. As alterações se caracterisam por um intenso desenvolvimento do reticulo nas porções marginais do foliculo (Est. 39, fig. *E*) donde se desenvolve pequena trama reticular que invade o centro germinativo. Com o decorrer do processo esta proliferação reticular se acentua e o foliculo aos poucos se atrofia, desaparecendo por fim totalmente. (Est. 39, fig. *F*). Nos pontos onde existiram foliculos formam-se então verdadeiras "cicatrizes" (Est. 39, fig. *G*), constituidas por densos conglomerados de substancia reticular, que depois, lentamente se dissociam e se transformam num emaranhado fibrilar muito delicado, confundindo-se finalmente com o tecido circunvisinho. Consequentemente ao desaparecimento dos foliculos, desenvolve-se uma nitida rarefação do tecido linfoide, que evolue a partir das porções perifericas e junto aos septos conjuntivos. Assim, nessas regiões, já em

época muito precoce, se nota o desaparecimento total das celulas linfoides, com persistência do tecido reticular, que conserva a sua estrutura. Esta lesão, no entanto, não se desenvolve ao mesmo tempo em todo o tecido ganglionar, de maneira que ao lado de áreas rarefeitas encontram-se outras em que o tecido linfoide tem ainda os característicos normais.

Proliferação de celulas reticulares — Concomitantemente com a aplasia do tecido linfoide, desenvolve-se acentuada proliferação reticular (Est. 39, fig. *H)*, que em casos de decurso mais prolongado se acentua grandemente, conduzindo a uma reticulóse de grande parte ou mesmo de quasi todo o ganglio.

Eosinofilia — Já referida por ocasião do estudo dos casos do primeiro grupo, aparece aqui com intensidade e, às vezes, conjuntamente com a infiltração por neutrofilos.

Em um caso experimental foram assinaladas, em ganglios isolados, áreas de necróse, às vezes extensas, originarias de infiltrados inflamatorios antigos e envolvidas por um valo de tecido reticular frouxo, constituido de celulas grandes, com citoplasma bem desenvolvido, granuloso, rarefeito ou vacuolizado e com nucleos grandes e claros.

Lesões vasculares — Enquanto nos casos do primeiro grupo foram assinaladas lesões regressivas das paredes vasculares, nestes, pelo contrario, o foram as de tipo proliferativo, representadas por tumefação das celulas endoteliais das arteriolas, dando origem a formação de figuras de endarterite obliterante.

Alterações regenerativas — Alguns animais apresentaram, nos ganglios, sinais demonstrativos de uma tendência à reparação, e como tais consideramos as alterações de carater nitidamente regenerativo do tecido linfoide, representadas pelo reaparecimento de foliculos em pleno tecido onde se dera anteriormente a proliferação reticular.

Devemos finalmente tratar das alterações pertencentes ao terceiro grupo, ou seja das encontradas em casos nos quais houve a ocurrência de abôrtos. Estas lesões, de um modo geral, representam um conjunto das alterações já descritas, porém com nitida acentuação de fenômenos indicativos do desenvolvimento de reações alergicas. Por outro lado, deve este conjunto de alterações ser considerado como constituindo o quadro verdadeiramente demonstrativo da existência da infecção brucelica, pois foi esse o substrato morfológico encontrado nos casos de infecção revelada pelos sinais clínicos da doença, caracterisados pelo abortamento.

Estudámos estas lesões em animais com infecção espontanea e experimental e em todos os casos revelaram-se perfeitamente idênticas. Constatámos sempre sinais de regeneração do tecido linfoide ao lado de alterações de carater alergico.

Regeneração do tecido linfoide — Chama a atenção nestes casos o aparecimento de nitidos sinais de regeneração linfoide em alguns pontos, ao lado de outros em que os processos da reação do tecido em face da in-

fecção se mostram particularmente intensos. A regeneração linfoide, como já acentuámos, se traduz pelo aparecimento de foliculos, com centros germinativos bem desenvolvidos, no seio de antigas áreas de proliferação reticular, enquanto os linfocitos se mostram em densos acumulos nos espaços peritrabeculares.

Alterações de caráter alergico — As lesões restantes, como assinalámos, indicam, de modo nitido, a ocurrência de processos alergicos. Verificámos, em geral, uma infiltração eosinofilica de alto gráo, aparecendo os eosinofilos ora infiltrados difusamente no tecido, ora em forma de micro-abcessos. Como consequência de infiltrados inflamatorios, observámos em um caso espontaneo a existência de áreas de necróse com depositos calcareos, envolvidas por valos de grandes celulas reticulares semelhantemente ao que foi descrito no segundo grupo.

A irritação do reticulo-endotelio se demonstrou pelo aparecimento de gigantocitos e de figuras de eritrofagocitose.

Nestes casos, além das lesões regressivas das paredes dos vasos, representadas inicialmente por tumefação endotelial e depois por hialinização e necróse, com consequentes hemorragias, verificámos tambem a ocurrência frequente do quadro da endarterite obliterante, apresentando-se algumas arteriolas com as paredes fortemente espessadas e hialinizadas.

Finalmente devemo-nos referir a uma alteração representada histologicamente por um quadro semelhante ao da degeneração fibrinoide e caracterizada pela dissociação do tecido reticular em finas e delicadas fibrilas com infiltração de líquido seroso (edema) nos intersticios. Esta lesão se mostrou sempre em íntima relação com o infiltrado de eosinofilos, portanto em áreas onde os processos alergicos parecem ter-se dado com maior intensidade.

## CONCLUSÕES

Pesquizas efetuadas em ganglios linfaticos de suinos com Brucelóse, demonstraram a existência de alterações que se revelaram constantes em todos os casos estudados, quer espontaneos, quer experimentais. Essas lesões, embora não tenham sinais que possam ser qualificados de específicos no sentido restríto da palavra, são, no entanto, suficientemente características, principalmente quando vistas em conjunto, para indicar a presença da infecção brucelica. Como ponto de reparo para a utilisação dessas alterações com o fim de diagnóstico, julgamos de interesse a pesquiza de certos achados que se revelaram muito frequentes. Desses devemo-nos referir principalmente à aplasia do tecido linfoide e à proliferação de celulas reticulares observadas ao lado de intensa infiltração eosinofilica, nos casos mais recentes, e nos casos recidivantes (com incidência de abôrtos) a essas mesmas alterações, acompanhadas de outras, como alterações vasculares degenerativas e proliferativas, hemorragias, degeneração de aspecto fibrinóide do tecido reticular e edema, concomitantemente com a presença, em outros pontos do ganglio, de processo regenerativo do tecido linfoide.

Naturalmente, ao deparar tais lesões, ocorre a necessidade do estabelecimento do diagnóstico diferencial. Deste ponto de vista, julgamos de interesse tratar sómente da diferenciação das alterações encontradas em linfadenites crônicas de caráter inespecífico. A distinção entre ambas, no entanto, pode ser feita em geral com facilidade, sendo para tanto necessário considerar sómente que as lesões oriundas da Brucelóse são encontradas em todos os ganglios do organismo, ao passo que as alterações consequentes a uma linfadenite simples são sempre localisadas em um ou no máximo nos ganglios de uma região. A pesquiza histológica revela nos casos de linfadenite crônica, áreas de fibróse constituindo sinais da cicatrização de lesões agudas antigas, enquanto na Brucelóse, como já acentuámos, se encontram sómente áreas de reticulose, facilmente diferenciaveis das primeiras. Naqueles casos faltam, além do mais, as áreas de aplasia linfoide e a infiltração eosinofilica. Por outro lado, o exame dos ganglios linfaticos do hilo pulmonar e do mediastino de leitões com lesões pneumonicas revela nitida proliferação reticular ao lado de infiltração por eosinofilos, o que poderia se prestar a uma confusão. Aqui, no entanto, além de se dever tomar em consideração o fator região, pois tratam-se de ganglios satelites de um órgão em que os processos gripais e a verminóse são muito frequentes, deve-se, além do mais, notar a falta da aplasia ou mesmo de sinais de rarefação do tecido linfoide; nestes casos, pelo contrário, o que se encontra, em geral, é uma nitida hiperplasia desse tecido.

Considerações um tanto semelhantes poderiam ser feitas com relação aos ganglios linfaticos do mesenterio.

Estas observações permitiram-nos, pois, concluir que a infecção pela Brucela provoca nos ganglios linfaticos de suinos alterações histológicas que, quando vistas em conjunto, podem ser consideradas como suficientes para o estabelecimento de um diagnostico diferencial.

## HISTOPATHOLOGY OF LYMPH NODES IN SWINE BRUCELLOSIS

*Abstract*

*Histopathological researches on lymph nodes of swine with Brucellosis revealed constant and similar lesions in all studied cases, either spontaneous or experimental.*

*The material studied was divided into three groups: a) animals dead by the infection; b) animals with latent infection or showing a tendency to recovery, and c) animals with exacerbation of the process, due to the occurrence of abortions.*

*Sub-maxillary, retropharyngeal, pre-scapular, mesenteric, portal, and inguinal lymph nodes of all these animals were studied.*

*The histological lesions found in the first group were characterised by rarefaction of the lymphatic tissue, infiltration of eosinophiles and neutrophiles, presence of focal necrosis and of giant cells, degenerative alterations of the blood vessels and by hemorrhages.*

*In the second group, aplasia of the lymphatic tissue, reticular proliferation, eosinophilia, vascular alterations of proliferative type and, sometimes, signs of regeneration, were seen.*

*The lesions of the third group represent, in a general way, an association of the alterations already described. In this case the evidences are clear of regeneration of the lymphatic tissue in connexion with lesions of an allergic character (regressive and proliferating alterations of the blood vessels, eosinophilia, hemorrhages, fibrin-like degeneration in some areas of the reticular tissue and oedema).*

*The observations lead to the conclusion that the infection by Brucella suis produced in the lymphatic nodes of swine, histological alterations that, when considered in association, will permit a differential diagnostic from other inflamatory processes.*

## BIBLIOGRAFIA

McNutt, S. H. — 1934 — Brucella infection of swine. *J. A. V. M. A.*, 37. 620-627.

Creech, G. T. — 1935 — Organic lesions in swine caused by Brucella suis. *J. A. V. M. A.*, 39. 211-216.

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 39

Fig. *A* — Gigantocitos.

Fig. *B* — Necróse miliar. Ao redor, acentuada hiperemia.

Fig. *C* — Degeneração hialina (à esquerda) e necróse (à direita) de paredes de capilares.

Fig. *D* — Extensa área de aplasia do tecido linfoide.

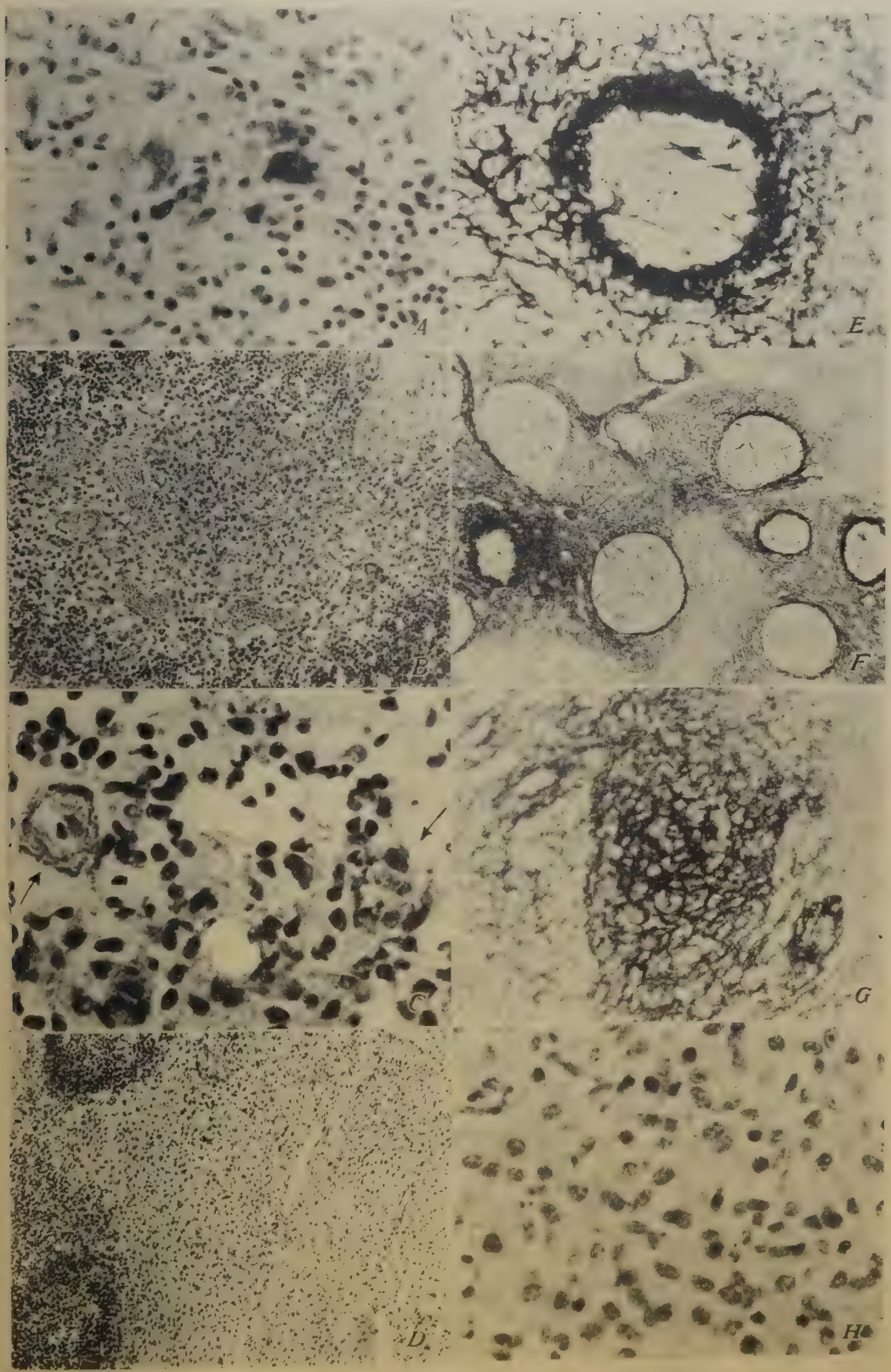
Fig. *E* — Acentuada proliferação do reticulo em torno de um foliculo linfoide.

Fig. *F* — Nitida proliferação reticular em torno de alguns foliculos. Notar que a intensidade desta proliferação está relacionada com o gráo de atrofia dos foliculos.

Fig. *G* — "Cicatriz" formada pela proliferação reticular em um foliculo.

Fig. *H* — Área de proliferação de celulas reticulares com infiltração de alguns eosinofilos.

———o———


A
E
B
F
C
G
D
H

Vol. 13 — Art. 27 Dezembro de 1942

# AGALAXIA CONTAGIOSA DAS CABRAS EM S. PAULO

POR

A. M. Penha e M. D'Apice

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 40-41

Ha mais de um século, encontram-se referências a uma doença particular dos carneiros e cabras em alguns paises do Sul da Europa, cujas multiplas manifestações clinicas lhe conferiram várias denominações. Essa doença, embóra altamente contagiosa, permaneceu sempre circunscrita aos referidos paises, de modo que a sua verificação entre nós, se reveste de dupla importância: primeiramente, porque parece ser pela primeira vez assinalada no continente americano, e em segundo lugar, pelos graves prejuizos que provoca não só quanto à mortalidade, mas sobretudo devido às sérias consequências que acarreta e à resistência aos meios profilaticos e curativos.

A agalaxia contagiosa pode se apresentar sob tres formas diferentes: o c u l a r, promovendo quasi sempre a cegueira; a r t i c u l a r, interessando uma ou mais articulações, e m a m á r i a, determinando alteração, diminuição ou mesmo supressão da secreção lactea. Essas formas podem manifestar-se isoladas ou associadas num mesmo animal.

Em face de numerosas observações e transmissões experimentais da infecção, que proporcionavam minucioso conhecimento da doença, admitia-se que o seu agente etiologico, ainda não isolado, fosse um virus filtravel.

Só em 1925, BRIDRÉ e DONATIEN conseguem esclarecer a natureza do micróbio da agalaxia, cujos caracteres morfológicos, culturais e de filtrabilidade permitiram considera-lo como semelhante ao da pleuropneumonia contagiosa bovina.

Recentemente DEBONERA, na Grécia, descreve uma epizootia particularmente grave de agalaxia em cabras, cujas características nos permitem enquadrar como semelhante ao tipo de infeção verificada entre nós.

Esta nossa comunicação visa apenas assinalar a doença e descrever a sua evolução experimental; fazem-se necessários mais estudos, afim de melhor precisar a natureza do microbio isolado.

Em Julho de 1941, uma das cabras de nossa criação de raça Toggenburg, manifesta suspensão brusca da secreção lactea em um dos tetos. As semeaduras do leite, que se apresentava cremoso, permitiram isolar um estafilocóco.

Semanas mais tarde a cabra apresenta no labio superior um edema frio, que desaparece alguns dias depois. A seguir, manifesta-se manqueira do membro posterior esquerdo, ao mesmo tempo que acentuado emagrecimento; e após alguns meses a cabra sucumbe, não mostrando à necropsia alterações macroscópicas que chamassem nossa atenção.

Durante êsse tempo perdemos alguns cabritos, atribuindo a sua morte à congestão pulmonar, em virtude da mudança brusca de temperatura observada na ocasião. Extranhando, porém, a frequência déssas mortes, decidimos fazer além do exame necroscópico, exames bacteriológicos, e em 13-11-41 necropsiámos um cabrito, que apresentava alguns fócos hiperemicos no pulmão.

Procedemos a culturas do figado, pulmão e sangue do coração, e quatro dias depois, na placa de agar sangue onde haviamos semeado o figado, observamos o desenvolvimento de pequenissimas colônias, das quais, após várias tentativas, conseguimos obtêr um esfregaço que, corado pelo Gram, mostrava uns elementos redondos, granulosos e filamentosos, que nos fizeram suspeitar de um gérme pertencente ao grupo da pleuropneumonia, tal a sua semelhança com êste micróbio. Corado pelo Giemsa, a morfologia se tornava mais evidente. Exame mais cuidadoso da placa mostrava que as colônias eram circunscritas por um pequeno halo de hemolise e por uma coloração verde-azeitona; em microscópio binocular modelo ZEISSLER as colônias eram redondas, compactas, apresentando no centro uma ou mais formações igualmente redondas e mais escuras.

Exames sistemáticos em seis outros animais mortos vieram esclarecer ainda mais a natureza do agente etiológico, embóra a evolução aguda, cerca de 4 dias, não nos permitisse colher dados clínicos interessantes. Notamos apenas hipertermia, prostração e anorexia.

*
* *

O gérme isolado póde ser cultivado em meios contendo sôro de cavalo ou sangue total de carneiro.

Caldo sôro — Nas primeiras 24 horas não parece haver crescimento aparente, porém 36 a 48 horas depois nota-se ligeira e uniforme turvação, que se acentua nos dias subsequentes, para no fim de 4 a 5 dias formar-se depósito no fundo do tubo, mantendo-se o líquido sobrenadante ligeiramente turvo.

Em um caso obtivemos, de hemocultura, o desenvolvimento de colônias isoladas.

Tarozzi sôro — Caractéres idênticos ao do caldo sôro. Aqui também obtivemos em hemocultura colônias isoladas. Estampa 40, fig. *C*.

**Placas de agar sôro** — O desenvolvimento se observa no 2.º a 3.º dia, e as colônias, pequenissimas, aumentam progressivamente de tamanho nos dias subsequentes. O exame destas, ao microscópio binocular modelo ZEISSLER, mostra colônias idênticas às já descritas.

**Placas de agar sangue** — Os mesmos caractéres que no agar sôro, notando-se ainda ligeira hemolise e, em virtude da ação do gérme sôbre a hemoglobina do sangue, observa-se coloração verde-azeitona em tôrno das colônias.

**Agar chocolate (sangue cozido, Levinthal)** — As colônias se desenvolvem com as mesmas características que no agar sangue, havendo a mesma mudança de coloração do meio de cultura. Nosso gérme conserva-se bem nêste meio, durante cerca de 6 meses, em temperatura ambiente; repicado mensalmente conservou sua virulência pelo menos durante 10 meses.

**Leite tornasolado** — O gérme se desenvolve, aparentemente sem modificar a reação do meio de cultura.

**Ação sôbre os açucares** — Sôbre a lactose, sacarose, glicose, manita, arabinose e xilose com 10% de sôro, apenas a glicose é tardiamente acidificada.

**Filtração** — As provas de filtração em velas Berkefeld N não foram muito satisfatórias, pois que em 10 ensaios com polpas de vários órgãos (fígado, baço, pulmão, rins) e edema diluido a 1%, apenas 3 vezes obtivemos resultado positivo com a polpa de fígado e de baço, proveniente de 2 cabritos mortos com a doença experimental.

**Morfologia** — Esfregaços de órgãos de animais mortos ou de culturas, corados pelo Giemsa (método lento e rápido) evidenciam elementos extraordinàriamente polimorfos: formas corpusculares, bastonetes retos, curvos ou ramificados, isolados ou reunidos, formas redondas aglomeradas ou isoladas, em cuja periferia às vezes se notam granulos donde partem ou não filamentos. Enfim, como dizem BRIDRÉ e DONATIEN, o mìcróbio apresenta todas as características morfológicas descritas por BORDET, BORRELL e DUJARDIN-BEAUMETZ para o micróbio da pleuropneumonia.

**Patogenicidade** — A inoculação em animais de laboratório (coelho, cobaia, rato e camondongo) resultou negativa, por várias vias (subcutânea, muscular, peritoneal ou pleural). A inoculação em cabritos com 5 meses de idade, ao contrário, foi sempre positiva, por via subcutânea, muscular ou intravenosa.

Em face dêsses resultados, verifica-se que o nosso virus determina uma evolução clínica diversa, em relação ao virus da agalaxia, quando inoculado experimentalmente.

A êste respeito DEBONERA descreveu uma forma grave de agalaxia em cabras, no vale de Evrotas, na Grécia, cuja evolução natural e experimental muito se assemelha ao que nos foi dado a observar.

## CONCLUSÕES

Isolamos e descrevemos pela primeira vez entre nós, um gérme agente de uma doença em caprinos de nossa criação, que pelas características culturais e morfológicas se assemelha ao virus da agalaxia.

Inoculação em cabritos de 1cc. de cultura em caldo sôro de cavalo, de 24 horas

| Dias | Subcutânea (tabua do pescoço) | | | Intramuscular (tabua do pescoço) | | | Intravenosa (jugular) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Temperatura | | Observações | Temperatura | | Observações | Temperatura | | Observações |
| | M | T | | M | T | | M | T | |
| 12 | | | Data das inoculações. | | 40.0 | | | 39.5 | — |
| 13 | 40.9 | 41.5 | Nodulo edematoso de 5 cm. de diâmetro no ponto de inoculação. | 40.9 | 41.0 | Nodulo edematoso no ponto de inoculação, de 3 cm. de diâmetro. | 39.4 | 39.4 | — |
| 14 | 42.1 | 42.1 | Aumento do nodulo edematoso e do gânglio pre-escapular correspondente. | 41.3 | 41.9 | Aumento do nodulo edematoso e do gânglio pre-escapular correspondente. | 39.5 | 39.8 | — |
| 15 | 41.3 | 42.0 | Idêntico ao anterior e respiração ofegante. Emagrecimento, abatimento, anorexia. | 40.8 | 40.5 | Idêntico ao anterior, respiração ofegante, emagrecimento e anorexia. Hemocultura positiva. | 39.6 | 39.1 | — |
| 16 | | | Morte. Edema no ponto de inoculação. Caquexia. Pequenos fócos hiperemicos no pulmão e intestinos; culturas do fígado, baço, pulmão, edema e sangue do coração, positivas. | 39.8 | 40.2 | Mesmas manifestações, porém mais acentuadas. | 40.5 | 40.7 | Pequeno nodulo edematoso no ponto de inoculação. |
| 17 | | | | | | Morte. Edema difuso no ponto de inoculação. Caquexia. Fócos hiperemicos no pulmão e intestinos. Gânglio pre-escapular muito aumentado, suculento ao corte. Culturas do sangue do coração, pulmão, fígado, baço, edema, gânglios e rins positivas. | 40.6 | 41.0 | Edema difuso atingindo a parte inferior do pescoço. |
| 18 | | | | | | | 41.0 | 41.5 | Maior extensão do edema. Abatimento, anorexia e emagrecimento. |
| 19 | | | | | | | 41.3 | 41.3 | O edema extende-se do pescoço à parte inferior da mandibula. O pescoço aumenta de volume. |
| 20 | | | | | | | 40.3 | 40.9 | Mesmas manifestações, porém, mais acentuadas. Manqueira do membro anterior direito. |
| 21 | | | | | | | 41.2 | 41.8 | Mesmas manifestações. |
| 22 | | | | | | | | | Morte. Lesões idênticas às anteriores, apenas o edema era muito mais difuso. |

O virus isolado não é patogênico para os animais de laboratório (coelho, cobaia, rato e camondongo) pelas vias subcutânea, muscular, peritoneal e pleural. Aos caprinos o virus é particularmente virulento, promovendo a morte em 5 dias, o que parece não se verificar com o virus agalaxico de BRIDRÉ e DONATIEN; enquadra-se melhor no tipo infecioso descrito por DEBONERA.

## CONTAGIOUS AGALAXIA ON GOATS IN S. PAULO


### *Abstract*

*In a herd of goats, of the Toggenburg breed, an infectious disease has been observed which does not seem to have been reported yet in the western hemisphere. A virus was isolated from organs of the victimed goats which exhibited charateristics similar to those of the pleuropneumonia group.*

*The microorganism can be easily cultivated in blood or serum agar, wherefore it can be isolated by plating.*

*Cooked blood agar cultures of the microorganism have been found alive after six months at room temperature.*

*The virus proved non pathogenic for rabbits, guinea pigs, rats and mice. When inoculated into kid, however, the virus is definitively virulent either subcutaneous, intramuscular or intravenous route, producing swelling, fever, anorexia and death whithin five days.*

*Regarding its virulence, our virus may be distinguished from the Agalaxia virus isolated by* BRIDRÉ *and* DONATIEN, *fitting better into the infectious type described by* DEBONERA.


## BIBLIOGRAFIA


1 — BORREL, DUJARDIN-BEAUMETZ, JEANTET et JOUAN — 1910 — Le microbe de la peripneumonie. *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 24, 161-167 e 168-179.

2 — BRIDRÉ, J. et A. DONATIEN — 1925 — Le microbe de l'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre. *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 39, 925-951.

3 — CARRÉ, H. — 1912 — Le "Mal de Lure". *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 26, 281-299.

4 — CARRÉ, H. — 1912 — L'agalaxie contagieuse de la brebis et de la chèvre. *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 26, 937-972.

5 — CARRÉ, H. — 1921 — L'agalaxie contagieuse de la brebis e de la chèvre. *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 35, 332-337.

6 — DEBONERA, G. — 1937 — Une forme particulière et grave d'agalaxie contagieuse: La maladie des edèmes des chèvres de Sparte. *Rec. Med. Vet. — École d'Alfort*, 113, 79-92.

7 — NOWAK, J. — 1930 — *Documenta Microbiologica.* Gustav Fischer, Jena, 115-118.

8 — Nowak, J. & I. Lominski — 1934 — Morphologie et evolution du microbe de l'agalaxie contagieuse des ovins et des caprins dans le milieux nutritifs. *Ann. de L'Inst. Pasteur*, 53, 438-452.

9 — Topley, W. W. C. & G. S. Wilson — 1938 — *The Principles of Bacteriology and Immunity*. William Wood & Co. Baltimore. 740-744.

## EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

### Estampa 40

Fig. *A* — Colonias de Asterococcus do líquido do edema em placa de agar sôro. 48 horas. 15 ×

Fig. *B* — Mesma que a anterior. 40 ×

Fig. *C* — Hemocultura de cabrito inoculado experimentalmente por via subcutanea, semeada em Tarozzi, notando-se o desenvolvimento de colônias isoladas, na rêde de fibrina, com um halo de hemolise. 72 horas. 5 ×

Fig. *D* — Esfregaço de cultura em caldo sôro do edema de um cabrito inoculado experimentalmente. Corado pelo Giemsa. 3.200 ×

Fig. *E* — Outra imagem do material anterior. Giemsa. 3.200 ×

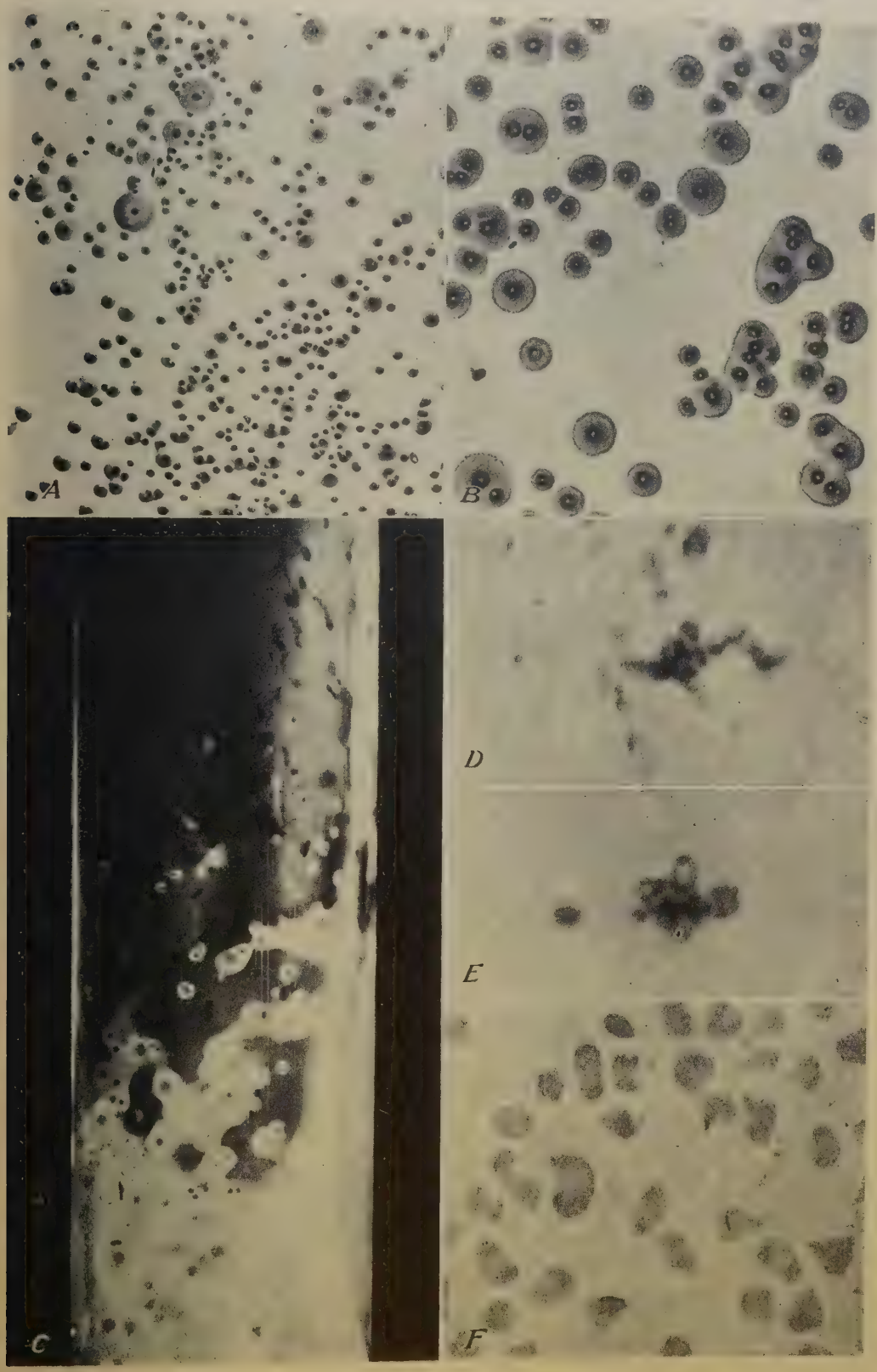
Fig. *F* — Esfregaço de sangue de cabrito com hipertermia. Giemsa. 3.200 ×

### Estampa 41

Fig. *G* — Cabrito inoculado por via intravenosa com 1 cc. de cultura em caldo sôro, notando-se o acentuado edema da região intermandibular.

Fig. *H* — O mesmo cabrito, mostrando edema da região escapular e aumento do pescoço. O animal não apoiava o membro anterior direito.

———o———


A
B
C
D
E
F

*H*

*G*

Vol. 13 — Suplemento Dezembro de 1942

# RELATÓRIO HELMINTOLÓGICO DA EXCURSÃO CIENTÍFICA A JUQUIÁ REALIZADA PELO DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA EM SETEMBRO E OUTUBRO DE 1940

POR

R. Cuocolo

Do Instituto Biologico de S. Paulo

Com a estampa 42

Em setembro de 1940, o Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo organizou uma excursão científica à localidade de Juquiá, no Estado de São Paulo, destinada principalmente à coleta de material zoológico para as coleções daquela instituição.

A excursão, sob os auspícios do Dr. LAURO TRAVASSOS FILHO, estava interessada particularmente na coleta de material entomológico.

Fomos convidados pelo Dr. LAURO TRAVASSOS FILHO a incorporarmo-nos à dita caravana para cuidar dos estudos helmintológicos, sendo o material correspondente destinado à coleção de helmintos da Secção de Parasitologia Animal do Instituto Biológico.

A comissão esteve composta de seis membros, a saber:

Do Departamento de Zoologia de São Paulo: Dr. LAURO TRAVASSOS FILHO, entomologista e responsavel pela excursão; Snr. CARLOS DE CARVALHO, auxiliar, e JOÃO DAMICO, motorista.

Do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro: Prof. LAURO TRAVASSOS, encarregado de estudos de entomologia.

Do Instituto Biológico de São Paulo: Snr. ROMEU CUOCOLO SOBRINHO, helmintologista, e Snr. CARLOS WEY MEYER, auxiliar.

Partimos de São Paulo no dia 26 de setembro às 7 horas da manhã, chegando à Fazenda Poço Grande, no quilómetro 192 da rodovia São Paulo-Juquiá, às 17 horas do mesmo dia. Nossos trabalhos tiveram início no dia 27 e se prolongaram até o dia 4 de outubro. Permanecemos na Fazenda Poço Grande até o dia 5, donde partimos pela manhã, chegando a São Paulo no mesmo dia à tarde.

Queremos deixar aqui nossos agradecimentos ao Dr. LAURO TRAVASSOS FILHO, não somente pelo convite, como pelos prestimosos auxílios que nos prestou, quer na captura de animais para exames, quer na conservação deles para posterior classificação. Somos também particularmente gratos ao Snr. FRANCISCO LANE, proprietário da Fazenda Poço Grande, de quem tivemos a melhor das acolhidas.

A colheita do material helmintológico foi realizada na Fazenda Poço Grande, à margem direita do Rio Juquiá, no quilômetro 192 da Estrada de Rodagem São Paulo-Juquiá. Êsse material foi obtido pela necrópsia de animais abatidos ou capturados na Fazenda ou circunvizinhanças. Foram autopsiados duzentos e vinte e sete animais, sendo duzentos e vinte e dois vertebrados e cinco invertebrados, distribuidos da seguinte forma:

| | POSITIVAS | | NEGATIVAS | | TOTAL | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Número de exemplares examinados | % no grupo | Número de exemplares examinados | % no grupo | Número de exemplares examinados | % relativamente ao total de necrópsias |
| Mamíferos | 2 | 50% | 2 | 50% | 4 | 1,8% |
| Aves | 65 | 51,3% | 62 | 48,7% | 127 | 55,9% |
| Répteis | 5 | 100% | — | — | 5 | 2,2% |
| Anfíbios | 29 | 96,8% | 1 | 3,2% | 30 | 13,2% |
| Peixes | 14 | 25% | 42 | 75% | 56 | 24,7% |
| Crustáceos | 2 | 40% | 3 | 60% | 5 | 2,2% |
| Total | 117 | — | 110 | — | 227 | — |

As amostras de helmintos coletadas nas necrópsias acima discriminadas foram distribuidas da seguinte maneira:

| | |
|---|---|
| Nematoides | 139 |
| Trematoides | 37 |
| Cestoides | 32 |
| Acantocéfalos | 26 |
| Temnocéfalos | 2 |
| Total | 236 amostras |

Os 227 animais examinados em autópsia pertenciam a 69 espécies diferentes, distribuidas da seguinte maneira:

| | Número de exemplares | Número de espécies | Porcentagem no grupo | Porcentagem no total |
|---|---|---|---|---|
| Mamíferos | 4 | 4 | 100% | 1,78% |
| Aves | 127 | 48 | 38,74% | 21,14% |
| Répteis | 5 | 3 | 60% | 1,33% |
| Anfíbios | 30 | 3 | 10% | 1,33% |
| Peixes | 56 | 10 | 17,85% | 4,40% |
| Crustáceos | 5 | 1 | 20% | 0,44% |
| Total | 227 | 69 | — | 30,4% |

As porcentagens da tabela acima referem-se sempre ao número de animais examinados.

O parasitismo por helmintos, nos vários grupos animais, esteve assim distribuido:

| | Parasitados por *Nematoides* | | Parasitados por *Trematoides* | | Parasitados por *Cestoides* | | Parasitados por *Acantocéfalos* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N.º | % | N.º | % | N.º | % | N.º | % |
| Mamíferos . . . | 2 | 100% | 1 | 50% | — | — | — | — |
| Aves . . . . . | 45 | 69,3% | 21 | 32,3% | 30 | 46,2% | 7 | 10,7% |
| Répteis . . . . | 5 | 100% | 2 | 40% | 2 | 40% | 2 | 40% |
| Anfíbios . . . . | 29 | 100% | 2 | 6,6% | — | — | 13 | 44,9% |
| Peixes . . . . | 7 | 50% | 8 | 57,2% | — | — | — | — |
| Total . . | 88 | 75,2% | 34 | 29,2% | 32 | 27,4% | 22 | 18,8% |

As porcentagens citadas na tabela acima foram tiradas relativamente ao número de animais positivos na autópsia e não ao número total de animais necropsiados.

Quanto aos invertebrados, foram examinados cinco exemplares de crustáceos (DECAPODA-BRACHYURA) dois dos quais abrigavam *Temnocephaloidea* do gênero *Temnocephala* BLANCHARD, 1849.

A maior parte das necrópsias foi realizada em aves, não só pela relativa facilidade de captura, como por ser o tipo predominante da fauna dessa região, fato aliás constatado nos relatórios de outras expedições congêneres realizadas em nosso país. Os mamíferos são particularmente raros, além do que sua captura se torna mais dificil, necessitando armadilhas especiais ou pessoal que saia com o fito predeterminado de sua caça. Dos quatro exemplares de mamíferos que foram objeto de exame helmintológico, um foi constituido por espécie doméstica — *Sus scrofa* L., de propriedade do Snr. FRANCISCO LANE. Os anfíbios são bastante numerosos, contudo na maioria pertencentes à espécie *Leptodactylus ocellatus* (L.), secundada por *Bufo crucifer* WIED., tendo-nos sido possível capturar, muito além da séde da fazenda, um único exemplar de *Otilophus typhonius* (L.), aliás de grande interesse por se encontrar parasitado na vesícula urinária e num dos ureteres por polistomídeos do gênero *Polystomum*. Este material é particularmente interessante pois até agora não conhecemos no Brasil trabalhos que refiram a ocorrência de polistomídeos em anfíbios brasileiros; e na coleção helmintológica da Secção de Parasitologia do Instituto Biológico de São Paulo, que conta mais de 3.000 amostras de helmintos, só ha uma de polistomídeos de *Paludicola signifera*, pro-

veniente do vale do Paraíba. Os répteis são também bastante raros, tendo-nos sido possível capturar apenas três exemplares de *Tupinambis teguixin* L. e dois ofídios da família *Colubridae*. Os peixes são abundantes, mas geralmente de porte muito reduzido e com porcentagem muito pequena de parasitismo por helmintos.

Como se depreende da tabela dada anteriormente o parasitismo predominante é por nematoides, o que aliás é a regra geral, seguindo-os os trematoides, e finalmente os cestoides e acantocéfalos.

Das aves necropsiadas colhemos e fixamos o conteúdo estomacal, remetendo esse material para o Dr. HUGO DE SOUZA LOPES, do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, para o devido estudo.

Cuidamos ainda da parte referente à protozoologia. Realizámos grande número de esfregaços de sangue quando o animal foi apanhado vivo, ou de órgãos, principalmente fígado e baço, quando chegavam às nossas mãos depois de mortos. Só deixamos de praticar esfregaços quando os animais chegavam às nossas mãos muito tempo depois de mortos, pois em tais casos o grande desenvolvimento de bactérias que se dá nesses órgãos obsta a obtenção dos resultados em vista dos quais eles são feitos. Os esfregaços foram entregues ao nosso colega de trabalho W. F. DE ALMEIDA, no Instituto Biológico, para a pesquisa de hemoparasitas.

Sempre que nos era possível, faziamos um exame rápido das fezes dos animais autopsiados, para a pesquisa de protozoários intestinais. Afora o exame microscópico das fezes, efetuavamos sua cultura para a pesquisa de protozoários em exame posterior mais acurado. O cultivo das fezes foi feito em ampoulas de cerca de 2 cm.$^3$ de capacidade, contendo cerca de 1 cm.$^3$ de meio de cultura. As ampoulas foram preparadas em São Paulo e fechadas a lâmpada. Usando-se de toda a assepsia possível, as fezes de cada animal eram semeadas em uma a três ampoulas, fechadas novamente a fogo e, devidamente marcadas, eram enviadas a São Paulo para serem conservadas em ambiente apropriado.

O meio por nós usado nas ampoulas foi uma modificação, idealizada pelo nosso colega W. F. DE ALMEIDA, do meio de CLEVELAND (1925) modificado por TANABE (1926) e tem a seguinte composição:

| | |
|---|---|
| Água distilada | 100 cc. |
| Cloreto de sódio | 0,3 gr. |
| Citrato de sódio | 0,5 gr. |
| Caldo de carne glicosado | 4,0 cc. |
| Sôro normal de cavalo | 2,0 cc. |
| Clara de ovo | 2,0 cc. |

Infelizmente, a maioria das culturas deu resultados negativos, mesmo as resultantes de semeadura com fezes previamente examinadas e que exibiam flagelados intestinais. Esse resultado, principalmente no que diz respeito ao material de aves, é facilmente explicavel. Em primeiro lugar, o desenvolvimento de *Blastocystis* e outros cogumelos, bem como o de determinadas bactérias, tem uma ação impediente sôbre o desenvolvimento desses flagelados, como já teve ocasião de verificar em nosso laboratório o Dr. W. F. DE ALMEIDA; além do que, a falta de uma temperatura adequada dificulta enormemente o desenvolvimento dos flagelados de aves.

De todas culturas realizadas, somente quatorze deram resultados positivos, tendo sido encontrado em todas estas, por nosso colega W. F. DE ALMEIDA, a espécie *Trichomonas vitali* C. PINTO & F. FONSECA, 1926. As quatorze culturas positivas estavam assim distribuidas: 13 provenientes de anfíbios, das quais duas eram de *Bufo crucifer* WIED., sob números 1.361 e 1.472 e onze de *Leptodactylus ocellatus* (L.), sob números 1.326, 1.440, 1.441, 1.442, 1.446, 1.483, 1.493, 1.504, 1.506 e 1.507; 1 de réptil, *Tupinambis teguixin* L., sob número 1.355.

Em um esfregaço de fígado, sob número 1.520, pertencente a um exemplar de *Stelgydopteryx ruficollis ruficollis* (VIEILL.) foi assinalada a presença de microfilárias, apezar de na necrópsia correspondente não ter sido encontrado o helminto adulto, fato, porém, que pode ser facilmente explicado, pois a localização dos adultos em lugares os mais diversos passa frequentemente despercebida em exames mais ou menos rápidos como são os que se fazem em excursões desse tipo.

A classificação dos hospedeiros que constituiram objeto de exame para pesquisa de helmintos e protozoários, devemos:

1) Mamíferos — ao Snr. CARLOS DA CUNHA VIEIRA, do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo.

2) Aves — ao Snr. CARLOS DA CUNHA VIEIRA, do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo.

3) Répteis — ao Dr. ALCIDES PRADO, do Instituto Butantan.

4) Anfíbios — ao Snr. ANTENOR LEITÃO DE CARVALHO, do Museu Nacional.

5) Peixes — à Snra. D.ª ANTONIA DO AMARAL CAMPOS, do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo.

A essas pessoas deixamos também aqui os nossos sinceros agradecimentos pelo gentil e precioso auxílio que nos prestaram.

Daremos, a seguir, a lista sistemática dos animais necropsiados, com os respectivos números de registro de autópsia e referências quanto aos parasitos neles encontrados.

## VERTEBRADOS

### MAMÍFEROS

Subclasse: *MARSUPIALIA*
Ordem: *POLYPROTODONTIA*
Família: *DIDELPHYDAE*

*Metachirus opossum* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.470, parasitado por trematoides de gênero *Rhopalia* e por Nematoides.

Subclasse: *PLACENTALIA*
Ordem: *RODENTIA*
Sub-ordem: *SIMPLICIDENTATA*
Família: *MURIDAE*

*Akodon cursor* WAGN.

Foi examinado um só exemplar, sob número 1.357, não abrigando helmintos.

Família: *SCIURIDAE*

*Guerlinguetus ingrami* (THOMAS)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.486, não parasitado por helmintos. Este exemplar encontrava-se parasitado por grande número de bernes, material que foi cedido ao Dr. L. TRAVASSOS FILHO.

Ordem: *UNGULATA*
Sub-ordem: *ARTIODACTYLA*
Família: *SUIDAE*

*Sus scrofa* L.

Foi examinado um só exemplar, sob número 1.511, abrigando nematoides das seguintes espécies: *Ascaris lumbricoides* L., 1758 (somente dois exemplares machos), *OEsophagostomum (OEsophagostomum) dentatum* RUDOLPHI, 1803 e *Hyostrongylus rubidus* (STILES & HASSAL, 1892).

### AVES

Ordem: *FALCONIFORMES*
Família: *FALCONIDAE*

*Elanoidis forficatus yaetapa* (VIEILL.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.434 e 1.485, o segundo parasitado por Cestoides *(Cyclophyllidea)* e Nematoides *(Subuluroidea)*.

Ordem: *STRIGIFORMES*
Família: *TITONIDAE*

*Tito alba tuindara* (GRAY)

Foi examinado um exemplar, sob número 1.420, não parasitado por helmintos.

Ordem: *PSITTACIFORMES*
Família: *PSITTACIDAE*

*Pyrrhura frontalis chiripepe* (VIEILL.)

Foi examinado um exemplar, sob número 1.436, não parasitado por helmintos.

*Triclaria malachitacea* (SPIX)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.347, não abrigando helmintos.

*Tirica tirica* (GMELIN)

Foi examinado um só exemplar, sob número 1.437, livre de helmintos.

Ordem: *CICONIIFORMES*
Família: *ARDEIDAE*

*Pilherodius pilleatus* (BODD.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.298, abrigando nematoides *(Subuluroidea)*.

Ordem: *TROGONIFORMES*
Família: *TROGONIDAE*

*Trogon strigilatus strigilatus* LINNAEUS

Foram examinados cinco exemplares, sob números 1.342, 1.343, 1.351, 1.352 e 1.452, todos parasitados por nematoides *(Spiruroidea)*. Os de números 1.342, 1.351 e 1.352, parasitados por nematoides *(Subuluroidea)* e o de número 1.342, por nematoides *(Filarioidea)*.

*Trogonurus rufus rufus* (GMELIN)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.353 e 1.425, ambos abrigando nematoides *(Spiruroidea)*; o de número 1.353, parasitado também por cestoides *(Cyclophyllidea)*.

Ordem: *CUCULIFORMES*
Família: *CUCULIDAE*

*Crotophaga ani* L.

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.400 e 1.477, ambos não abrigando helmintos.

*Guira guira* (Gm.)

Foram examinados cinco exemplares, sob números 1.358, 1.359, 1.360, 1.455 e 1.456. Estavam parasitados por cestoides os dos seguintes números: 1.358, 1.359 e 1.360. Abrigavam nematoides *(Spiruroidea)* os de números 1.359 e 1.360. Todos os exemplares, com excepção do n.º 1.358, estavam parasitados por acantocéfalos.

*Piaya cayana macroura* Gambel

Foram examinados três exemplares, sob números 1.428, 1.435 e 1.451. Todos parasitados por nematoides, sendo por *Filarioidea* o n.º 1.428, por *Spiruroidea* o n.º 1.435 e por *Ascaroidea* e *Subuluroidea* os de números 1.428 e 1.451.

*Coccyzus euleri* Cabanis

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.495, parasitado por nematoides *(Subuluroidea)*.

Ordem: *MICROPODIIFORMES*

Família: *TROCHILIDAE*

*Argyrtrina fimbriata nigricauda* (Elliot.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.381, não parasitado por helmintos.

Ordem: *COLUMBIFORMES*

Família: *COLUMBIDAE*

*Columba rufina sylvestris* Vieill.

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.484, não abrigando helmintos.

Ordem: *CORACIIFORMES*

Família: *MOMOTIDAE*

*Baryphtengus ruficapillus* (Vieill.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.430, livre de helmintos.

Ordem: *PICIFORMES*

Família: *RHAMPHASTIDAE*

*Selenidera maculirostris maculirostris* (LICHT.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.422, livre de helmintos.

*Rhamphastos vitellinus ariel* VIGORS

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.337, não parasitado por helmintos.

Família: *PICIDAE*

*Phlococeastes robustus robustus* (LICHT.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.421 e 1.423, êste livre de helmintos e o primeiro parasitado por nematoides *(Spiruroidea)* e cestoides.

Ordem: *PASSERIFORMES*

Família: *FURNARIIDAE*

*Certhiaxis cinnamomea russeola* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.338, não parasitado por helmintos.

*Synallaxis spixi spixi* SCLATER

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.309 e 1.311, ambos não parasitados por helmintos.

Família: *DENDROCOLAPTIDAE*

*Dendrocincla turdina* LICHT.

Foram examinados três exemplares, sob números 1.345, 1.346 e 1.429. O de número 1.345 estava parasitado por larva de acantocéfalo. O de número 1.346 estava livre de helmintos e o de número 1.429, parasitado por nematoides *(Ascaroidea)*.

*Thamnophilus caerulescens caerulescens* (VIEILL.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.339 e 1.467, ambos livres de helmintos.

Família: *CONOPOPHAGIDAE*

*Conopophaga melanops melanops* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.497, não parasitado por helmintos.

Família: *TYRANNIDAE*

*Myiarchus tyrannulus bahiae* BERLIYSSCH.

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.341 e 1.459, ambos livres de helmintos.

*Colonia colonus colonus* (VIEILL.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.304 e 1.424, ambos livres de helmintos.

*Tyrannus melancholicus* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.427, não parasitado por helmintos.

*Pitangus sulphuratus maximilliani* (CAB. & HAINE)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.502 e 1.512, ambos não parasitados por helmintos.

*Myiodinastes solitarius* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.488, não parasitado por helmintos.

Família: *COTINGIDAE*

*Procnias nudicollis* (VIEILL.)

Foram examinados três exemplares, sob números 1.348, 1.457 e 1.466, todos negativos quanto a helmintos.

Família: *TURDIDAE*

*Turdus rufiventris* VIEILL.

Foram examinados oito exemplares, sob números 1.296, 1.320, 1.328, 1.374, 1.375, 1.382, 1.408 e 1.416. Todos se apresentaram parasitados por nematoides *(Filarioidea);* o de número 1.375 parasitado por nematoides *(Spiruroidea);* os de números 1.296, 1.320, 1.328, 1.374 e 1.416 parasitados por cestoides e os de números 1.296, 1.328, 1.374, 1.375, 1.382 e 1.408, parasitados por trematoides do gênero *Eurytrema.*

*Turdus amaurochalinus* CABANIS

Foram examinados sete exemplares, sob números 1.307, 1.318, 1.319, 1.329, 1.376, 1.409 e 1.415. Todos se apresentaram parasitados por cestoides. Com excepção do de número 1.409, todos estavam parasitados por nematoides *(Filarioidea).* O de n.º 1.318 estava parasitado por acantocéfalos e o de número 1.329 por trematoides do gênero *Eurytrema.*

*Turdus albicollis* VIEILL.

Foi examinado um único exemplar sob o número 1.383, livre de helmintos.

*Platycichla flavipes* (VIEILL.)

Foram examinados oito exemplares, sob números 1.299, 1.332, 1.333, 1.334, 1.386, 1.410, 1.458 e 1.492. Estavam livres de helmin-

tos os dos seguintes números: 1.299, 1.386, 1.410 e 1.458. Os de números 1.333 e 1.334 apresentaram-se parasitados por trematoides do gênero *Eurytrema;* o de número 1.332 por nematoides *(Spiruroidea)* e o de número 1.492, por nematoides *(Filarioidea)*.

Família: *TROGLODYTIDAE*

*Troglodytes musculus guarixa* PULCHERAN

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.461 e 1.463, ambos livres de helmintos.

Família: *MNIOTILTIDAE*

*Basileuterus flaveolus* (BAIRD)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.404 e 1.490, ambos livres de helmintos.

Família: *HIRUNDINIDAE*

*Progne chalybea domestica* (VIEILL.)

Foram examinados 16 exemplares, sob números 1.294, 1.301, 1.364, 1.366, 1.367, 1.369, 1.371, 1.372, 1.401, 1.402, 1.403, 1.405, 1.406, 1.407, 1.411 e 1.412. Foram negativos quanto a helmintos os dos seguintes números: 1.371, 1.372 e 1.412. Os de números 1.294, 1.301, 1.364, 1.366, 1.367, 1.369, 1.401, 1.402, 1.403, 1.406, 1.407 e 1.411 estavam parasitados por trematoides do gênero *Lutztrema* TRAVASSOS, 1941. Os de números 1.294, 1.364, 1.366, 1.403 e 1.405, parasitados por cestoides. Os de números 1.364, 1.367, 1.369, 1.401, 1.402 e 1.405, parasitados por nematoides *(Spiruroidea)*. O de número 1.301, parasitado por nematoides *(Filarioidea)*. O de número 1.411 apresentava um cisto, junto à veia porta, abarrotado de nematoides. Finalmente o de número 1.364 apresentou-se parasitado por acantocéfalos.

*Stelgydopteryx ruficollis ruficollis* (VIEILL.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.482 e 1.520, ambos não parasitados por helmintos.

Família: *ICTERIDAE*

*Cacicus haemorrhous aphanes* (SWANISON)

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.487, não parasitado por helmintos.

Família: *THRAUPIDAE*

*Thraupis sayaca sayaca* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.417, não parasitado por helmintos.

*Thraupis ornata* (SPAERM.)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.380 e 1.431. O primeiro parasitado por nematoides *(Filarioidea)* e o segundo apresentando um cisto com nematoides, junto à veia porta.

*Phoenicothraupis rubica* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.426, não parasitado por helmintos.

*Ramphocelus bresilius dorsalis* SCLATER

Foram examinados 16 exemplares, sob números 1.295, 1.314, 1.315, 1.316, 1.336, 1.354, 1.378, 1.379, 1.399, 1.413, 1.453, 1.454, 1.464, 1.465, 1.478 e 1.481. Os de números 1.314, 1.315, 1.336, 1.379, 1.453, 1.464 e 1.478 estavam parasitados por cestoides. Somente o de número 1.399 se apresentou parasitado por nematoides *(Spiruroidea)*. Os oito exemplares restantes apresentaram-se livres de parasitismo por helmintos.

*Tachyphonus coronatus* (VIEILL.)

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.317, não parasitado por helmintos.

*Tachyphonus cristatus bruneus* (SPIX)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.312, não parasitado por helmintos.

*Cissopis leveriana major* CABANIS

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.432, apresentando um cisto com nematoides, junto à veia porta.

*Tersina viridis viridis* (ILLIGER)

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.388 e 1.460. O exemplar n.º 1.388 apresentou-se livre de helmintos e o de número 1.460 estava parasitado por cestoides.

*Calospiza tricolor* GMELIN

Foram examinados dois exemplares, sob números 1.414 e 1.476. O primeiro apresentou-se livre de helmintos e o segundo, parasitado por nematoides *(Filarioidea)*.

Família: *FRINGILLIDAE*

*Sicalis flaveola* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob o número 1.462, não parasitado por helmintos.

RÉPTEIS

Ordem: *SQUAMATA*

Sub-ordem: *LACERTILIA*

Família: *TEJIDAE*

*Tupinambis teguixin* L.

Foram examinados três exemplares, sob números 1.355, 1.387 e 1.510, todos parasitados por nematoides do gênero *Physaloptera* e por nemas *(Strongyloidea)*. A cultura de fezes do exemplar n.º 1.355 deu resultado positivo quanto a *Trichomonas vitali* C. PINTO & F. FONSECA, 1926.

Sub-ordem: *OPHIDIA*

Família: *COLUBRIDAE*

*Chironius carinatus* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.489, parasitado por linguatulídeos, por trematoides do gênero *Opisthogonimus*, por nematoides *(Strongyloidea)*, por acantocéfalos e por trematoides na vesícula biliar.

*Liophis miliaris* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.494, parasitado por trematoides do gênero *Opisthogonimus*, por nematoides do gênero *Ophidascaris*, por acantocéfalos, por cestoides e por nematoides *(Strongyloidea)*.

ANFÍBIOS

Família: *BUFONIDAE*

*Bufo crucifer* WIED.

Foram examinados 9 exemplares, sob números 1.356, 1.361, 1.447, 1.472, 1.473, 1.474, 1.475, 1.508 e 1.509. O de número 1.356 foi negativo quanto a helmintos. Estavam parasitados por nematoides do gênero *Rhabdias* os dos seguintes números: 1.472, 1.473, 1.474, 1.508 e 1.509. Todos os exemplares, com exceção do n.º 1.356, estavam parasitados por nematoides oxiurídeos. Os de números 1.474, 1.508 e 1.509 estavam parasitados por acantocéfalos e os de números 1.475 e 1.509 apresentaram nematoides encistados nas paredes do estômago. Os de números 1.361 e 1.472 foram positivos para *Trichomonas vitali*.

*Otilophus typhonius* (L.)

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.419, parasitado por nematoides oxiurídeos e por dois exemplares de polistomídeos do gênero *Polystomum*, estando um exemplar na vesícula urinária e o outro em trecho alto do ureter esquerdo.

Família: *LEPTODACTYLIDAE*

*Leptodactylus ocellatus* (L.)

Foram examinados 20 exemplares, sob números seguintes: 1.326, 1.327, 1.433, 1.440, 1.441, 1.442, 1.443, 1.444, 1.445, 1.446, 1.449, 1.450, 1.471, 1.483, 1.493, 1.503, 1.504, 1.505, 1.506 e 1.507. Todos se apresentaram parasitados por nematoides oxiurídeos. Os de números 1.327, 1.433, 1.471, 1.483, 1.503, 1.504 e 1.505 estavam parasitados por nematoides do gênero *Rhabdias*. Os de números 1.446 e 1.506 estavam parasitados por nematoides do gênero *Oxyascaris*. Os de números 1.433, 1.505 e 1.506 estavam parasitados por nematoides filarídeos. Os de números 1.326, 1.327, 1.440, 1.441, 1.442, 1.443, 1.444, 1.445, 1.446, 1.493, 1503, 1.506 e 1.507 apresentaram nematoides encistados nas paredes do estômago e do intestino. Os de números 1.433, 1.445, 1.446, 1.471, 1.503, 1.504 e 1.505 encontravam-se parasitados tambem por acantocéfalos. Somente o de número 1.507 se apresentou parasitado por trematoide da espécie *Gorgoderina (Neogorgoderina) parvicava* TRAVASSOS, 1920. Nas culturas das fezes dos de números 1.326, 1.440, 1.441, 1.442, 1.446, 1.449, 1.483, 1.493, 1.504, 1.506 e 1.507 desenvolveram-se flagelados intestinais da espécie *Trichomonas vitali* C. PINTO & F. FONSECA, 1926.

PEIXES

Família: *CHARACIDAE*

*Tetragonopterus bimaculatus* CUV. et VAL.

Foram examinados 19 exemplares, sob números 1.297, 1.300, 1.302, 1.305, 1.308, 1.310, 1.313, 1.325, 1.349, 1.350, 1.368, 1.513, 1.514, 1.515, 1.516, 1.517, 1.518 e 1.519, todos livres de helmintos.

*Xiphorhamphus hepsetus* JENYNS

Foram examinados três exemplares, sob números 1.303, 1.340 e 1.344; o de número 1.340, parasitado por nematoides e os outros dois livres de helmintos.

*Maerodon trahira* MÜLL. et TROSCH.

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.418, livre de helmintos, mas apresentando sangue-sugas sôbre o corpo.

Família: *CICHLIDAE*

*Cichlasoma facetum* JENYNS

Foram examinados quatro exemplares, sob números 1.468, 1.469, 1.479 e 1.480. Os de números 1.468 e 1.469, parasitados por nematoides. Os de números 1.479 e 1.480 não estavam parasitados por helmintos, apresentando o n.º 1.480 uma sangue-suga sôbre o corpo.

*Geophagus brasiliensis* Q. et J.

Foi examinado um único exemplar, sob número 1.491, não parasitado por helmintos.

Família: *CALLICHTHYDAEE*

*Coridoras julli* STEIND.

Foram examinados quatro exemplares, sob números 1.498, 1.499, 1.500 e 1.501, todos parasitados por trematoides.

Família: *LORICARIIDAE*

*Loricaria latirostris* (BOUL.)

Foi examinado um só exemplar, sob número 1.362, não abrigando helmintos.

Família: *SILURIDAE*

*Rhamdia vittata* KROYER et LÜTK.

Foram examinados onze exemplares, sob números 1.306, 1.321, 1.322, 1.323, 1.324, 1.331, 1.363, 1.365, 1.370, 1.373 e 1.377, todos livres de helmintos.

*Rhamdia sebae* CUV. et VAL.

Foram examinados 10 exemplares, sob os números 1.335, 1.389, 1.391, 1.392, 1.393, 1.394, 1.395, 1.397, 1.398 e 1.439. Os de números 1.335, 1.391, 1.394 e 1.397 estavam livres de helmintos. Os de números 1.389, 1.392 e 1.393 estavam parasitados por trematoides. Os de números 1.395 e 1.398 abrigavam nematoides, e o de número 1.439 estava parasitado simultaneamente por nematoides e trematoides.

*Pimelodus clarias* L.

Foram examinados três exemplares, sob números 1.330, 1.390 e 1.396; os dois primeiros não abrigavam helmintos, enquanto o de número 1.396 estava parasitado por nematoides.

## INVERTEBRADOS

### CRUSTACEA

Ordem: *DECAPODA*

Sub-ordem: *BRACHYURA*

Família: *POTAMONIDAE*

*Trichodactylus* sp.

Foram examinados cinco exemplares, sob os números 1.384, 1.385, 1.438, 1.448 e 1.496, todos apanhados no Rio Juquiá. Os três primeiros nada apresentaram e os de números 1.448 e 1.496 apresen-

taram, na superfície do corpo, nas juntas articulares e na câmara aérea, exemplares de temnocefalídeos da espécie *Temnocephala lanei* PEREIRA & CUOCOLO, 1941. Os dois exemplares parasitados apresentavam pequeno número de temnocefalídeos, enquanto os três primeros nada apresentavam, o que se explica talvez pela correnteza de que é dotado o rio no trecho em que foram apanhados os crustáceos, pois como já tivemos ocasião de observar quanto aos demais temnocefalídeos brasileiros, sua incidência e número é bem maior em lugares remansosos.

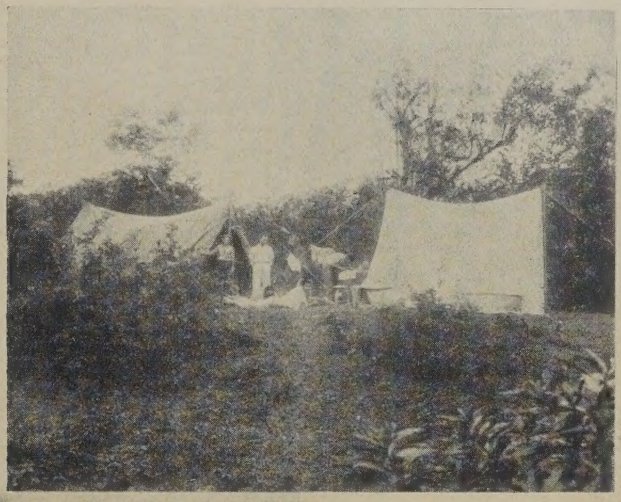
## HELMINTHOLOGICAL REPORT ON THE SCIENTIFIC TRIP TO JUQUIÁ, BY THE ZOOLOGICAL DEPARTMENT, IN SEPTEMBER-OCTOBER, 1940

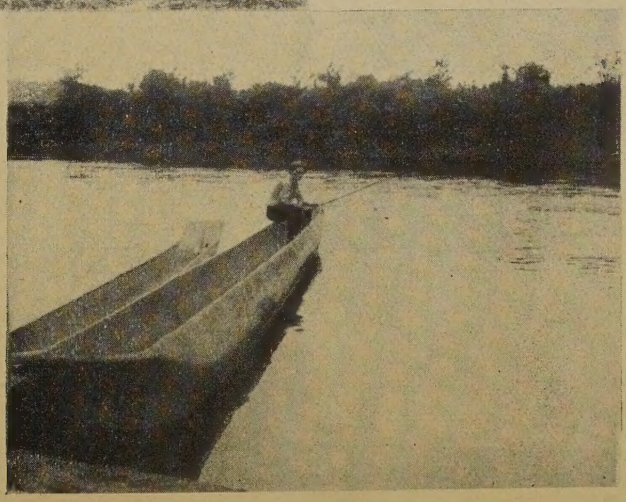
*Abstract*

*This paper deals with the helminthological results of the expedition of the State Zoological Department to Juquiá, State of São Paulo, Brazil.*

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 42

Fig. *A* — Vista de nosso acampamento próximo à margem direita do Rio Juquiá.
Fig. *B* — Idem.
Fig. *C* — Vista do Rio Juquiá.





SÃO PAULO
TIPOGRAFIA BRASIL
ROTHSCHILD LOUREIRO & CIA. LTDA.
Rua 15 de Novembro, 201
1942